



**DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE LOS GÉNEROS BACTERIANOS
Vibrio, *Salmonella*, *Shigella* Y *Enterococcus* EN LAS AGUAS DE LASTRE DE
LOS BARCOS DE TRÁFICO INTERNACIONAL QUE ARRIBAN AL PUERTO
DE SANTA MARTA, (CARIBE COLOMBIANO)**

ANDRÉS WASHINGTON RINSDAHL SOBRERO

**UNIVERSIDAD DEL MAGDALENA
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS
PROGRAMA DE BIOLOGÍA CON ÉNFASIS EN RECURSOS HÍDRICOS
SANTA MARTA D.T.C.H.
2007**





**DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE LOS GÉNEROS BACTERIANOS
VIBRIO, SALMONELLA, SHIGELLA Y ENTEROCOCCUS EN LAS AGUAS DE
LASTRE DE LOS BARCOS DE TRÁFICO INTERNACIONAL QUE ARRIBAN
AL PUERTO DE SANTA MARTA, (CARIBE COLOMBIANO)**

ANDRÉS WASHINGTON RINSDAHL SOBRERO

Trabajo de Grado presentado como requisito para optar al título de Biólogo

**Director
MÓNICA MONTOYA AGUIRRE
Bióloga Marina**



**UNIVERSIDAD DEL MAGDALENA
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS
PROGRAMA DE BIOLOGÍA CON ÉNFASIS EN RECURSOS HÍDRICOS
SANTA MARTA D.T.C.H.
2007**





NOTA DE ACEPTACIÓN



Director de Programa.

Jurado

Jurado



Santa Marta, Junio de 2007



DEDICATORIA

DIOS es la Fuente del verdadero entendimiento, Dios es la Fuerza que permite que la Vida continúe, si no es por Él nada se puede... pero en Él todo es Posible...

A DIOS eternas gracias.

A mi Madre, a mi Padre, por darme la posibilidad de alcanzar este sueño. A Rosalva que me dio el mejor apoyo y su calido amor.

A Ibania mi esposa por el apoyo incondicional; a mi adorada Hija Rafaela por enseñarme a ser papá, a mi querido hijo David por su calido amor; a mi suegra por su ayuda.

A mis hermanos:

Erica por decirme que ¡se Puede!;

José Alejandro por aguantar mi ausencia como todo un hombre;

Anahi por su cariño y paciencia;

Daniel porque tus preguntas generaron resultados;

Gabriela por sumarte a la familia.

A mis Amigos:

Emilio Bozzano porque con vos empecé este largo camino de la ciencia.

Maria Rosa Marruco por acompañarme en una parte del camino.

Fatima Botto Lubo por su amistad, nobleza y paciencia

Lenin por enseñarme que el orden y la perseverancia permiten lograr triunfos.

Bladimir tu meticulosidad genera buenos resultados.

Norbelis siempre conté con tu apoyo.

Francisco y Anita son pocos los momentos compartidos, pero muy enriquecedores.

A todas las personas que de una forma u otra a lo largo de trece años me colaboraron en el camino de SER BIOLOGO... desde ARGENTINA a COLOMBIA, desde la Patagónia a la Bahía más hermosa de América...

ANDRES WASHINGTON RINSDAHL SOBRERO

AGRADECIMIENTOS

Por la colaboración y la ayuda brindada en cualquiera de las fases de esta investigación, expreso mis más sinceros agradecimientos a:

- A la UNIVERSIDAD DEL MAGDALENA por permitirme lograr este sueño a través de su financiación.
- Al personal del Instituto de Investigaciones Tropicales (INTROPIC).
- A Mónica Montoya Aguirre por su confianza, paciencia, orientación y valiosos consejos durante el desarrollo de este trabajo.
- Al Personal del Área de Microbiología y Biblioteca del INSTITUTO DE INVESTIGACIONES MARINAS Y COSTERAS "JOSE BENITO VIVES DE ANDREIS. INVEMAR, en especial a Martha Liliana Gómez.
- Al Profesor Manjarres por enseñarme a utilizar el Software SPSS.
- A Javier Rodríguez por colaborarme con el Software Biodiversity.
- Especial agradecimiento a Fredd Bobbs quien me regalo bibliografía muy interesante.
- A Luís Miguel Rangel, Carolina Uribe, Mendy Calero, por su colaboración logística.



BB
00055
y1



TABLA DE CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN.....	14
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	18
3. ANTECEDENTES.....	20
4. JUSTIFICACIÓN.....	23
5. OBJETIVOS.....	25
5.1 GENERAL.....	25
5.2 ESPECIFICO.....	25
6. PLANTEAMIENTO DE LAS HIPOTESIS.....	26
7. MARCO TEÓRICO.....	27
7.1 LOS IMPACTOS EN LA SALUD HUMANA.....	28
7.2 LOS IMPACTOS SOBRE EL ECOSISTEMA ACUÁTICO.....	28
7.3 LEGISLACIÓN DEL AGUA EN COLOMBIA.....	29
7.4 LEGISLACIÓN INTERNACIONAL SOBRE AGUAS DE LASTRE.....	29
7.5 MICROBIOLOGÍA ACUÁTICA.....	29
7.6 CARACTERÍSTICAS DE LOS GÉNEROS DE ESTUDIO.....	31
7.6.1 Familia Enterobacteriaceae.....	31
7.6.2 Género <i>Salmonella</i>	31
7.6.3 Aspectos generales de <i>salmonella</i> en el medio ambiente	31
7.7 Género <i>Shigella</i>	32
7.7.1 Aspectos generales de <i>Shigella</i> en el medio ambiente.....	32
7.8 Familia Vibrionaceae.....	32
7.8.1 Género <i>Vibrio</i>	33
7.8.2 Aspectos generales de <i>Vibrio</i> en el medio ambiente.....	33
7.9 Familia Enterococaceae.....	34
7.9.1 Género <i>Enterococcus</i>	34
7.9.2 Aspectos generales de <i>Enterococcus</i> en el medio ambiente.....	35



8. ÁREA DE ESTUDIO.....	36
8.1 UBICACIÓN DE LA ZONA DE ESTUDIO.....	36
8.1.1 Características físico-químicas de la Bahía de Santa Marta.....	37
8.2 DESCRIPCIÓN DEL TERMINAL MARÍTIMO PORTUARIO DE SANTA MARTA.....	37
8.2.1 Sociedad Portuaria de Santa Marta (S.P.S.M.).....	38
8.2.2 Ecopetrol S.A.....	38
8.2.3 Drummond Ltd.....	38
8.2.4 Prodeco S.A.....	40
8.2.5 C.I. Ciénaga S.A.....	40
9. METODOLOGÍA.....	41
9.1. FASE DE CAMPO.....	41
9.2 Selección de la muestra y tipo de embarcaciones a muestrear.....	41
9.2.1 Acceso vía <i>manhole</i>.....	42
9.2.2 Deslastrado en cubierta.....	42
9.2.3 Moto bomba.....	42
9.3 Recolección de las muestras de agua de lastre.....	42
9.4 Medición de los factores físico-químicos.....	43
9.5 Fase de laboratorio.....	44
9.6 Procesamiento de la Muestra.....	44
9.6.1 Presencia o ausencia de <i>Salmonella</i> sp en el agua de lastre.....	44
9.6.2 Presencia o ausencia de <i>Shigella</i> sp. en el agua de lastre.....	45
9.6.3 Determinación de <i>Vibrio</i>.....	45
9.6.4 Presencia o ausencia de <i>Enterococcus</i> sp. en el agua de lastre.....	45
9.6.5 Caracterización microscópica y macroscópica.....	45
9.6.6 Análisis bioquímico.....	46
9.7 FASE DE GABINETE.....	47
10. RESULTADOS y DISCUSIÓN.....	49

10.1 PRESENCIA DE LOS GÉNEROS BACTERIANOS.....	49
10.1.2 Género <i>Enterococcus</i>	49
10.1.3 Género <i>Vibrio</i>	52
10.1.4 Género <i>Salmonella</i>	53
10.1.5 Género <i>Shigella</i>	54
10.2 CARACTERIZACIÓN MACRO Y MICROSCÓPICA DE ALGUNOS MORFOTIPOS.....	55
10.2.1 Género <i>Vibrio</i>	56
10.2.3 Género <i>Salmonella</i>	63
10.2.4 Género <i>Shigella</i>	67
10.3 Identificación bioquímica de algunos morfotipos bacterianos	67
10.4 RELACIÓN DE ALGUNAS VARIABLES ESPACIO-TEMPORALES Y FISICOQUIMICAS CON LOS GÉNEROS BACTERIANOS EN ESTUDIO.....	71
10.4.1 VARIABLES ESPACIO-TEMPORALES.....	71
10.4.2 VARIABLES FISICOQUIMICAS	77
11. CONCLUSIONES	84
12. RECOMENDACIONES	85
13. BIBLIOGRAFIA	87



LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Presencia-Ausencia de los diferentes géneros bacterianos en las muestras de las aguas de lastre de los barcos de tráfico internacional arribados al puerto de Santa Marta durante el periodo comprendido entre enero y junio de 2006.	49
Tabla 2. Parámetros utilizados por legislaciones internacionales para el conteo de <i>Enterococcus</i> en las playas de uso recreacional. (EPA, 1986; Ministerio de Recursos Naturales de Argentina, 2003; NMX-AA-120-SCFI-, 2006.....	51
Tabla 3. Unidades formadoras de colonia por 100ml de agua de lastre de los barcos de tráfico internacional arribados al puerto de Santa Marta durante el periodo de estudio.....	51
Tabla 4. Morfotipos de los géneros en estudio presentes en el agua de lastre de los barcos de tráfico internacional arribados al puerto de Santa Marta durante el periodo de muestreo.....	57
Tabla 5. Listado de especies encontradas en las aguas de lastre de los barcos de tráfico internacional arribados al puerto de Santa Marta durante el periodo comprendido entre enero y junio de 2006.....	69
Tabla 6 Últimos puertos de arribo de los barcos de tráfico internacional monitoreados y que arribaron al Puerto de Santa Marta durante el periodo de estudio.....	73
Tabla 7. Días de confinamiento de las aguas de lastre en los tanques de lastre y tiempo de viaje de los barcos de tráfico internacional arribados al puerto de Santa Marta durante el periodo comprendido entre enero y junio de 2006.....	75





Tabla 8. Razón de verosimilitud con significancia exacta, entre la presencia de los géneros en estudio versus el tiempo de confinamiento y localización geográfica del agua de lastre en los tanques de los barcos arribados al Puerto de Santa Marta durante el periodo de estudio.	76
Tabla 9. Variables fisicoquimicas de las aguas de lastre de las embarcaciones de trafico internacional que arriban al puerto de Santa Marta monitoreadas durante el periodo de Enero a junio de 2006.....	79
Tabla 10. Razón de verosimilitud con significancia exacta entre la presencia de los géneros en estudio y las variables fisicoquímicos.....	85

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Proceso de lastrado de una embarcación.....	14
Figura 2. Proceso de deslastrado de una embarcación.....	15
Figura 3. Mapa de la Bahía de Santa Marta.....	37
Figura 4. Vista aérea de la Terminal portuaria de Santa Marta.....	38
Figura 5. Vista aérea de la Terminal portuaria de Santa Marta.....	39
Figura 6. Muestreos a diferentes profundidades utilizando la botella van Dorn.....	42
Figura 7. Características macroscópicas y microscópicas de las colonias bacterianas	46
Figura 8. Unidades formadoras de colonia (UFC) de <i>Enterococcus</i> en las muestras de 100ml de aguas de lastre de los barcos de tráfico internacional arribados al puerto de Santa Marta durante el periodo comprendido entre enero y junio de 2006.	52
Figura 9. Numero de Morfotipos bacterianos del genero <i>Vibrio</i> encontrados en las aguas de lastre de los barcos de tráfico internacional arribados al puerto de Santa Marta durante el periodo comprendido entre enero y junio de 2006.....	54
Figura 10. Numero de Morfotipos bacterianos del género <i>Salmonella</i> encontrados en las muestras de aguas de lastre de los barcos de tráfico internacional arribados al puerto de Santa Marta durante el periodo comprendido entre enero y junio de 2006.....	54



Figura 11. Numero de Morfotipos bacterianos del genero <i>Shigella</i> encontrados en las muestras de aguas de lastre de los barcos de tráfico internacional arribados al puerto de Santa Marta durante el periodo comprendido entre enero y junio de 2006.....	55
Figura 12. Similaridad de Jaccard entre los buques muestreados según la presencia de los géneros bacterianos en estudio.....	74
Figura 13. Relación entre el tiempo del agua de lastre y los niveles de <i>Enterococcus</i>	78
Figura 14. Relación entre $\mu\text{g-at NH}_4/\text{l}$ presente en el agua de lastre en los tanques de los barcos de tráfico internacional arribados y monitoreados durante el periodo de estudio y el género <i>Enterococcus</i>	80
Figura 15. Relación entre $\mu\text{g-at NO}_2/\text{l}$ presente en el agua de lastre en los tanques de los barcos de tráfico internacional arribados y monitoreados durante el periodo de estudio y el género <i>Enterococcus</i> .	81
Figura 16. Relación entre $\mu\text{g-at Si}/\text{l}$ presente en el agua de lastre en los tanques de los barcos de tráfico internacional arribados y monitoreados durante el periodo de estudio y el género <i>Enterococcus</i>	81
Figura 17. Relación entre $\mu\text{g-at NO}_3/\text{l}$ presente en el agua de lastre en los tanques de los barcos de tráfico internacional arribados y monitoreados durante el periodo de estudio y el género <i>Enterococcus</i>	82
Figura 18. Relación entre $\mu\text{g-at PO}_4/\text{l}$ presente en el agua de lastre en los tanques de los barcos de tráfico internacional arribados y monitoreados durante el periodo de estudio y el género <i>Enterococcus</i>	82
Figura 19. Relación entre la salinidad (UPS) presente en el agua de lastre en los tanques de los barcos de tráfico internacional arribados y monitoreados durante el periodo de estudio y el género <i>Enterococcus</i>	83

Figura 20. Relación entre el potencial hidrogenion (pH) presente en el agua de lastre en los tanques de los barcos de tráfico internacional arribados y monitoreados durante el periodo de estudio y el género *Enterococcus*

83

Figura 21. Relación entre la temperatura en el agua de lastre en los tanques de los barcos de tráfico internacional arribados y monitoreados durante el periodo de estudio y el género *Enterococcus*.....

84



1. INTRODUCCIÓN

Durante millones de años las especies acuáticas se han distribuido en los océanos por medios naturales, a través de corrientes oceánicas, vientos sobre la superficie del mar y otros fenómenos meteorológicos. Si bien los factores abióticos (temperatura, salinidad, etc.) limitan el área de distribución de muchas especies (Raaymakers; 2002), el transporte marítimo y las actividades portuarias permiten que estas barreras puedan ser traspasadas aumentando su área de distribución (Margalef, 1995). Puesto que todos los barcos necesitan tener equilibrio en su peso para poder navegar de manera rápida y segura (OMI, 1998), se hace necesario almacenar en los tanques de lastre grandes volúmenes de agua (Figura 1) procedentes de ríos, estuarios y otros mares donde habitan muchos organismos propios de una región (Montoya, 2006).

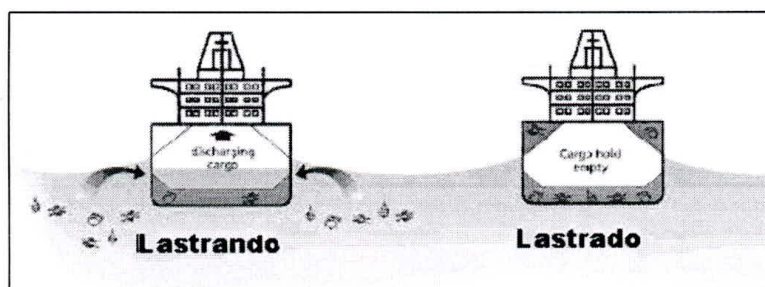


Figura 1. Proceso de Lastrado de una embarcación (Tomado y modificado de Raaymakers, 2002).

Las embarcaciones han sido vectores importantes en la introducción y colonización de especies potencialmente invasoras, las cuales pueden ocasionar graves daños o perjuicios en una zona o región (Raaymakers; 2002). Una manera en que esto se produce es a través de la descarga de agua de lastre, puesto que al llegar al siguiente puerto de destino para cargar otros productos o mercancías,

debe vaciar el agua almacenada tal como se muestra en la figura 2 (Montoya, 2006).

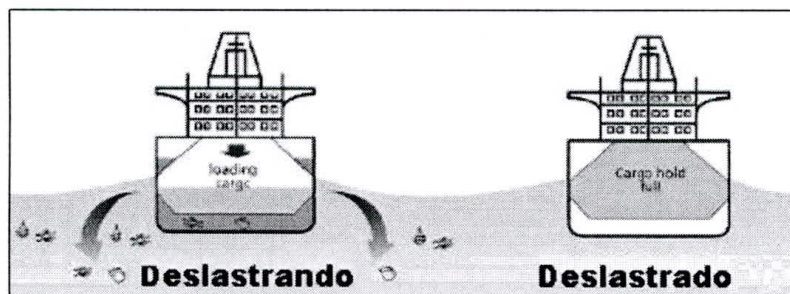


Figura 2. Proceso de deslastrado de una embarcación (Tomado y modificado de Raaymakers, 2002).

A escala mundial los barcos transfieren al año entre los puertos, aproximadamente 10 billones de toneladas de aguas de lastre, transportando diferentes especies que incluyen microorganismos como bacterias o macroorganismos como peces y crustáceos. La bioinvasión es considerada como la cuarta amenaza en la degradación de los ecosistemas marinos pues puede generar perjuicios al ecosistema, la salud pública y la economía de una región. (Raaymakers, 2002; OMI, 2004),

Algunas de las bacterias transferidas vía agua de lastre que llegan al ambiente acuático son potencialmente patógenas, ocasionando graves enfermedades al hombre que destina el recurso hídrico para fines recreativos y uso doméstico, ocasionando posibles enfermedades gastrointestinales, infecciones en los ojos, nariz y garganta (González *et al.*, 1996). Así, también se desencadenan efectos adversos sobre la economía de una región que puede ser vulnerable ante esta amenaza. Por consiguiente, con este trabajo de investigación se pretende determinar la presencia de algunos géneros bacterianos potencialmente patógenos que están entrando vía agua de lastre, para lo cual se tomaran

muestras a los tanques de los barcos de tráfico internacional que arriban a la zona portuaria de la Ciudad de Santa Marta.

La posibilidad que el agua de lastre cause perjuicios, fue reconocido por la Organización Marítima Internacional (OMI) en la resolución A.774 (18) de 1994 (OMI, 1998). Como consecuencia, en 1997 se aprobó la resolución A868 (20) titulada "Directrices para el control y la gestión del agua de lastre de los buques con el fin de reducir la transferencia de organismos acuáticos perjudiciales y agentes patógenos". De otra parte, la OMI junto con el Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo (United Nations Development Programme -UNDP) aunaron esfuerzos junto con la Agencia Global del Medio Ambiente (Global Environment Facility-GEF) para asistir a los países en desarrollo la reducción de la transferencia de especies potencialmente invasoras vía agua de lastre (Raaymakers y Dandou, 2000).

En el año 2004, se ratificó el "Convenio Internacional para el Control y la Gestión de Aguas de Lastre", el cual busca crear las condiciones legales para que las naciones adopten leyes que permitan reducir los impactos que producen las aguas de lastre sobre el medio ambiente. Dicho convenio entrará en vigor doce meses después de la fecha en que por lo menos 30 estados lo ratifiquen, equivalentes al 35 por ciento del tonelaje bruto de la marina mercante mundial (OMI, 2004).

En Colombia existe una pujante actividad portuaria aumentando considerablemente el riesgo de introducción de especies debido a que no existe una legislación al respecto ni planes de manejo en puertos para minimizar el riesgo. El Centro de Investigaciones Oceanográficas e Hidrográficas (CIOH) de la Dirección General Marítima (DIMAR) viene desarrollando desde el 2002 monitoreos sobre este tipo de agua en la Bahía de Cartagena (Rondon *et al.*, 2003).

Actualmente el Puerto de Santa Marta es el primer puerto en exportación de carbón (DIAN, 2005), lo cual implica un mayor volumen de deslastrado y, por consiguiente, un vector considerable en la introducción de especies. Es importante resaltar que no se han realizado estudios en el área ni existe conocimiento de lo que esta llegando en esta agua y el efecto que esta tenga sobre el ambiente, por lo tanto, se hace prioritario conocer la composición microbiana que está entrando vía agua de lastre que permitan servir de base para futuros estudios sobre esta problemática y proyectar medidas de control y manejo. Se debe tener en cuenta que para este tipo de trabajo no hay metodología estandarizada para la toma de muestras y que puede variar según el tipo de embarcación y la logística que se presenta a bordo y en puerto.

El presente trabajo forma parte del Macroproyecto: "Impacto de las aguas de lastre en la Bahía de Santa Marta, (Caribe colombiano). Fase I: Composición de fauna y flora en las aguas de lastre de los buques que arriban al Puerto de Santa Marta" el cual se enmarca dentro de la línea de investigación Ecológica y es desarrollado por el Grupo de Investigación Modelación de Ecosistemas Costeros del INTROPIC de la Universidad del Magdalena.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Santa Marta posee el primer puerto más importante de granel seco de la región Caribe colombiana (SUPERTRANSPORTE, 2004), realizando exportaciones principalmente hacia EE.UU. (>1'000.000 ton/año.), Israel, Italia, Canadá, Francia, Puerto Rico, Reino Unido, Alemania y Bélgica (100.000 – 500.000 ton/año) (DIMAR, 2002). Esto implica un incremento en el tráfico portuario y, por consiguiente un aumento en el volumen de agua deslastrada, convirtiéndola en una zona altamente sensible a la introducción de organismos potencialmente patógenos a través del agua de lastre (Raaymakers, 2000).

En Colombia aún no existe una legislación que regule dicha actividad, aumentando los riesgos que implica la problemática para el destino del recurso hídrico para actividades de contacto primario y secundario. Por lo tanto, este trabajo de investigación pretende responder las siguientes preguntas: ¿están presentes los géneros bacterianos de *Vibrio*, *Shigella*, *Salmonella*, *Enterococcus* en las aguas de lastre de los barcos que arriban al puerto de Santa Marta?

Teniendo en cuenta la información del formato OMI de la embarcación muestreada podría resolver algunas interrogantes como: ¿Qué embarcación aporta mayor diversidad de morfotipos bacterianos?, ¿Afectan las condiciones físico químicas tales como: pH, temperatura, salinidad, nutrientes a la presencia de estos géneros bacterianos?

De acuerdo a las observaciones realizadas por Joachimsthal *et al.*, (2002) y Doblin *et al.*, (2003) en cuanto al número de bacterias relacionadas con el tiempo de confinamiento del agua en los tanques observar si ¿Existe relación entre el confinamiento del agua de lastre en el tanque con la presencia de estos géneros bacterianos?. Estos cuestionamientos darán base fundamental en la generación

de conocimiento que contribuirá en un futuro a la regulación de las aguas de lastre en el país.

3. ANTECEDENTES

En 1992, la administración de drogas y alimentos de los Estados Unidos (USFDA) realizó un monitoreo en la bahía Mobile determinando la presencia *Vibrio cholerae* 01 serotipo Inaba, Biotipo El Tor en ostras e intestinos de peces, según el autor esto se debe al deslastrado sobre la bahía, puesto que se determino la existencia de *Vibrio cholerae* en el agua de lastre de los barcos arribados en este sector (De Paola, 1992 En: Casalle, 2002).

En 1993, se detecto en Noruega la presencia de un tipo no endémico de *Vibrio cholerae* posiblemente transferida vía agua de lastre (Henriksen *et al.*, 1993), la cual se reporta endémica durante 1994 en Bangladesh (India) (Carlton, 1995 En: Casalle, 2002). Asimismo en 1994, se reportó en Perú la bacteria *Vibrio cholerae* en las aguas de lastre de los barcos provenientes de las Costas estadounidenses del Golfo (Mata 1994 En: Casalle, 2002).

Entre 1997 y 1998, se realizaron diversos monitoreos en busca de patógenos bacterianos en embarcaciones transoceánicas que arribaban a los diferentes puertos de los Grandes Lagos, (Knight *et al.*, 1999) se utilizaron diferentes metodologías para determinar la presencia de patógenos, virus y protozoarios. (Reynolds *et al.*, 1999) y se determino el potencial de esta agua como vehículo de transmisión intercontinental de estas tres especies, *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli* y *Salmonella*, demostrando la supervivencia de bacterias patógenas en este medio (Zo Y *et al.*, 1999). Asimismo; estudios realizados en la bahía Chesapeake y los Grandes Lagos han demostrado la presencia ocasional de bacterias patógenas como *Vibrio cholerae* y *Aeromonas* sp. (Dobbs *et al.*, 2003).

En el 2001, el Programa *Globallast* hace un especial énfasis en la bacteria *Vibrio cholerae* describiendo los efectos nocivos que se manifestaron en Sudamérica y áreas del Golfo de México debido a su introducción (Raaymakers y Gould, 2001).

Durante el año 2004, se procedieron a cuantificar los microorganismos patógenos en el Puerto de Mumbai, India, (Ramaiah *et al.*, 2004), recogiendo muestras de vegetales, animales y del agua del puerto, registrando la presencia de *Escherichia coli* O157, coliformes fecales, *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus* y *Salmonella* sp. Es importante resaltar que este sector presenta 100 veces más niveles de coliformes en comparación con otros puertos de la zona del Océano Índico; según el autor, esto es debido al deslastre de los barco. En Singapur, se están realizando monitoreos rápidos utilizando técnicas de epifluorescencia, la cual presenta ciertas ventajas dado que determina efectivamente la presencia de patógenos como *Vibrio cholerae* o *Escherichia coli* rápidamente (Joachimsthal *et al.*, 2002). Estudios realizados por Balakrish y Hormazábal, 2005 presumen que la bacteria *Vibrio parahaemolyticus* cuyo nicho ecológico esta establecido en Asia ha sido diseminada vía agua de lastre a Estados Unidos. Asimismo, en Chile *Vibrio parahaemolyticus* llegó desde el sudeste asiático a través de este medio (Soza, 2005).

En Colombia la Dirección General Marítima (DIMAR) a través del Centro de Investigaciones Oceanográficas e Hidrográficas (CIOH), inició un programa de investigación para identificar especies en el agua de lastre de los buques que arriban a la Bahía de Cartagena. La primera fase del proyecto se ejecutó en el año 2002 y en ésta se analizaron muestras provenientes de 12 buques de tráfico internacional determinando el componente bacteriano, fitoplancton y zooplancton. Los resultados indican la presencia en las aguas de lastre de las bacterias *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Vibro cholerae*, *Salmonella* sp,

Proteus mirabilis, *P. vulgaris*, *Enterobacter* sp. , *Klebsiella pneumoniae* y *Aeromonas hydrophila* (Rondon et al., 2003).

Durante el segundo y tercer trimestre del año 2004, el CIOH realizo el monitoreo a cuatro muelles en la Bahía de Cartagena y los tanques de cuatro buques de tráfico internacional, para determinar la diversidad planctónica, microbiológica y características fisicoquímicas presentes tanto en el medio como en los tanques de los buques. Lo anterior, con el fin de establecer la composición fitoplanctónica, zooplanctónica y características ambientales que predominan en éstos y posteriormente establecer si a través del lastre de buques de tráfico internacional están llegando especies invasoras que afecten las características propias del sistema. En los buques se determino la presencia de *Aeromonas hydrophila*, *Serratia* sp., *Pantoea* sp., *Providencia rettgeri*, *Yersinia* sp., *Enterobacter* sp., *Pasteurella* sp., *Proteus mirabilis* y *P. vulgaris*, *Citrobacter* sp., *Vibrio parahaemolyticus*, y *V. alginolyticus* (Páez et al., 2005).



4. JUSTIFICACIÓN

El Puerto de Santa Marta ocupa el primer lugar en exportación de granel seco, por lo cual juega un papel estratégico en el desarrollo nacional (SUPERTRANSPORTE, 2004; DIAN, 2006). Las embarcaciones carboneras que llegan a dicho puerto deslastran en o cerca del puerto volúmenes equivalentes a la próxima carga; este procedimiento repetitivo generado por el aumento del tráfico marino representa una potencial amenaza de invasión de especies e introducción de bacterias sobre el ecosistema circundante tal como se reporta en diferentes regiones del mundo, donde las actividades portuarias son muy activas (Raaymakers, 2000; Ramaiah *et al.*, 2004).

En la actualidad no hay información base en Santa Marta de estudio que permita conocer que organismos patógenos están entrando vía agua de lastre. Por lo anterior, con este trabajo de grado se pretende aportar información acerca de la presencia de algunos géneros bacterianos patógenos en el agua de lastre de los barcos que arriban al Puerto de Santa Marta y así dar base a futuro, impedir la posible invasión de especies que deterioren el ecosistema de la región, puesto que la conservación del ecosistema marino costero es importante para las comunidades que dependen de él (INVEMAR, 2000).

El territorio marítimo Colombiano es de aproximadamente 980.000km² (INVEMAR, 2000) y con costas en los dos mares, en los cuales hay un desarrollo portuario considerable si tenemos en cuenta que hay cuatro puertos en el Pacífico y nueve en el Atlántico (DIMAR, 2005), por tanto, es importante y esencial desarrollar este tipo de trabajo de investigación aportando información base que permita en un futuro establecer normas o políticas que regulen la descarga del agua de lastre sobre las costas colombianas. Además, la participación activa de Colombia en la

conferencia de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente en Río de Janeiro en el año 1992, su firme adhesión y ratificación al convenio sobre Diversidad Biológica (CDB, Ley 165 de 1994), la promulgación de la ley 99 de 1993, la formulación de la Política Nacional de Biodiversidad (IAvH, 1996) tiene la obligación de suplir tal necesidad.

El Programa Nacional de Investigación, Evaluación, Prevención, Reducción y Control de Fuentes Terrestres y Marinas de Contaminación al Mar (PNICM) permite a Colombia dar cumplimiento a los convenios adquiridos para el cuidado del ambiente marino. Por lo anterior, el presente trabajo de grado será parte del apoyo brindado a la DIMAR para abordar el estudio correspondiente a Santa Marta, con el fin de poder crear una legislación en Colombia sobre el control en el vertimiento del agua de lastre en los mares y costas donde tiene soberanía.

5. OBJETIVOS

5.1 GENERAL

Determinar la presencia de los géneros bacterianos *Vibrio*, *Salmonella*, *Shigella* y *Enterococcus* en el agua de lastre de los barcos de tráfico internacional que arriban al Puerto de Santa Marta (Caribe colombiano), durante el periodo de enero a junio de 2006.

5.2 ESPECÍFICOS

- Caracterizar macro y microscópicamente algunos morfotipos de los géneros *Vibrio*, *Salmonella*, *Shigella* y *Enterococcus*.
- Identificar bioquímicamente algunos Morfotipos pertenecientes a los géneros bacterianos de *Vibrio*, *Salmonella*, *Shigella* y *Enterococcus*.
- Relacionar algunas variables espacio-temporales y fisicoquímicas del agua de lastre con la presencia de los géneros bacterianos en estudio



6. PLANTEAMIENTO DE LAS HIPOTESIS

Hipótesis:

Están presentes los géneros bacterianos de *Vibrio*, *Shigella*, *Salmonella* y *Enterococcus* en el agua de lastre de los barcos que arriban al puerto de Santa Marta durante el periodo de enero a junio de 2006.

Hipótesis Ø:

El agua de lastre de los barcos que arriban al Puerto de Santa Marta no presentan los géneros bacterianos de: *Vibrio*, *Shigella*, *Salmonella* y *Enterococcus*.

Hipótesis:

Afectan las condiciones fisicoquímicas (pH, temperatura, nutrientes, salinidad) contenidas en el tanque de lastre la presencia de los géneros bacterianos de *Vibrio*, *Shigella*, *Salmonella* y *Enterococcus*.

Hipótesis Ø:

Las variables fisicoquímicas de pH, temperatura, nutrientes, salinidad contenidas en el agua del tanque de lastre no condicionan la presencia de los géneros bacterianos en estudio.

Hipótesis:

El tiempo de confinamiento en el tanque y el origen del agua de lastre determinan la presencia de los géneros bacterianos en estudio.

Hipótesis Ø:

El tiempo de confinamiento en el tanque y el origen del agua de lastre no determinan la presencia de los géneros bacterianos en estudio.

7. MARCO TEORICO

El agua de lastre se define como el agua, con las materias en suspensión que contenga, cargada a bordo de un buque para controlar la estabilidad y los esfuerzos del buque, la cual es fácilmente maniobrable para lastrar y deslastrar la embarcación (OMI, 2004); esta agua puede ser cargada en un océano y liberada en otro facilitando la introducción de organismos y la invasión de especies no deseadas (Gisado *et al.*, 1998) generando un potencial problema medio ambiental debido a que pueden producir los siguientes impactos, con sus respectivas repercusiones económicas en (Raaymakers, 2002):

- Reducción en los productos pesqueros (incluyendo el colapso de la pesquería), debidos a la competencia, predación o cambios en el medio ambiente generados por la presencia de la especie invasora.
- Reducción en la eficiencia de pesca o mayor esfuerzo pesquero por la sobrepoblación de especies invasoras.
- Impactos sobre la acuicultura (incluyendo el cierre de la actividad) especialmente debido a la introducción de algas cuyo florecimiento es dañino.
- Cierre de playas de uso recreativo para turistas debido a la presencia de especies invasoras generadoras de malos olores debido al florecimiento algal.
- Impactos físicos sobre la infraestructura costera e instalaciones industriales, debido a la sobrepoblación de especies.
- Impactos económicos debido a la pérdida de biodiversidad (disminución del potencial genético, cambios en la biota, disminución de la riqueza de especies)

- Impactos en la salud pública debido a enfermedades por la introducción de bacterias potencialmente patógenas o especies tóxicas que pueden causar graves enfermedades e incluso la muerte.

7.1 LOS IMPACTOS EN LA SALUD HUMANA.

Las enfermedades transmitidas por la industria marítima están reconocidas desde hace seiscientos años, líderes de la salud y de las industrias marítimas sostienen que el transporte internacional de enfermedades es una amenaza para la salud pública. En el siglo XIV se entendió que las epidemias surgieron de las rutas del comercio marítimo (Casale, 2002); siendo actualmente el agua de lastre un vector al respecto (Ruiz ,2000 EN: Casale, 2002). Un ejemplo es lo ocurrido en las costas de Perú, donde la epidemia del Cólera mató a más de diez mil personas e infectó a más de un millón entre 1991 y 1994. Según expertos los brotes ocurrieron simultáneamente en tres puertos diferentes, cuyas evidencias determinaron que fue distribuido vía agua de lastre pues esta enfermedad era endémica de Bangladesh (India) (Casalle, 2002).

Asimismo se ha podido determinar que ciertos patógenos son capaces de infectar ostras, plancton (McCarthy y Khambaty, 1994 En: Falkner, 2003) y peces de lagunas estuarinas (Gómez, 1999), ocasionándoles enfermedades graves e incluso la muerte. La situación empeora más si estos organismos infectados son consumidos crudos por el hombre por lo tanto, las implicaciones sobre la salud humana distinguen el problema del agua de lastre sobre otros referentes a la contaminación medioambiental (Raaymakers, 2002).



7.2 LOS IMPACTOS SOBRE EL ECOSISTEMA ACUÁTICO.

En las últimas décadas se ha reportado un incremento significativo en la incidencia de enfermedades infecciosas en comunidades arrecífales del Caribe (Goreau *et al.*, 1998; Weil, 2001; Weil *et al.*, 2002; Croquer *et al.*, 2003 En: García *et al.*, 2004). Este incremento puede estar relacionado con diversos factores, entre los que se pueden mencionar el transporte de patógenos a través de las aguas de lastre de los barcos que atraviesan el Canal de Panamá, lo que representa la conexión de provincias biogeográficas separadas por millones de años y nuevos patógenos en contacto con nuevos hospedadores (Harvell *et al.*, 1999, Harvell *et al.*, 2002 En: García *et al.*, 2004) afectando gravemente las comunidades arrecífales.

7.3 LEGISLACIÓN DEL AGUA EN COLOMBIA.

Es importante resaltar que no existe una legislación que regule las descargas de agua de lastre en Colombia.

7.4 LEGISLACIÓN INTERNACIONAL SOBRE AGUAS DE LASTRE.

Según la norma de eficacia de la gestión del agua de lastre descrita en el Convenio de la OMI (2004), los buques deberán descargar menos de 10 organismos viables por metro cúbico con tamaño superior o igual a 50 μm de dimensión mínima y menos de 10 organismos viables por mililitro con tamaño inferior a 50 μm e igual o superior a 10 μm de dimensión mínima. Los indicadores microbiológicos, como estándares de salud humana, no deben exceder las siguientes especificaciones:

- a. *Vibrio cholerae* Toxicogénico (01 y 0139) con menos de 1 unidad formadora de colonia (UFC) por 100 mililitros o menos de 1 UFC por 1 gramo (peso húmedo) de muestra de zooplancton;
- b. *Escherichia coli* menos de 250 UFC/100ml.
- c. Enterococcus Intestinales menos de 100 UFC/100ml.

7.5 MICROBIOLOGÍA ACUÁTICA.

Las bacterias están presentes en todas las aguas naturales (Díaz, 1988) y, aunque la posibilidad de encontrarlas en el mar abierto, es remota debido a la baja concentración de nutrientes se han hallado números de 10^5 y 10^6 unidades formadoras de colonia (UFC) por mililitro (Madigan *et al.*, 2004). Se ha determinado que las bacterias en el medio oceánico se encuentran en mayor proporción en la zona eufótica decreciendo considerablemente entre los 200 y 500 m de profundidad (Packard, *et al.*, 1971, Sieburth, 1971, Takashi & Ichimura, 1971; Hobbie, *et al.*, 1972; Gundersen *et al.*, 1972; Sieburth *et al.*, 1977; Karl and Holm-Hansen, 1978; Williams, *et al.*, 1980 En: Joint y Morris, 1982) y por debajo de los 1000m el número total desciende a 10^3 - 10^5 UFC/ml (Madigan, *et al.*, 2004).

Estos procariotes oceánicos son particularmente pequeños, debido al bajo contenido de nutrientes (Campbell, 2001). Estudios recientes demostraron la existencia de ultramicrobacterias como las del género *Sphingomonas* que pueden atravesar fácilmente un filtro de $0,2\mu\text{m}$ siendo dominantes en los océanos polares, alcanzando niveles de 10^{12} a 10^{13} UFC por mililitro (Perscott *et al.*, 2004)

El medio marino representa la mayor parte en volumen de la biosfera, conteniendo el 97% del agua del planeta. El 75% del volumen oceánico se encuentra en el mar profundo, a una profundidad superior a 1000 metros. El océano es como un frigorífico de “alta presión”, con la mayor parte del volumen por debajo de los 100

metros, a una temperatura constante de 3°C y carente de luz; por eso la diversidad bacteriana depende de diferentes factores, como la disponibilidad y concentración de nutrientes (desde extremadamente bajas a muy altas), las transiciones de zonas aeróbicas a anaeróbicas y la mezcla de agentes oxidantes y reductores (Perscott *et al.*, 2004). Así mismo existen bacterias marinas que soportan temperaturas altas (Hipertermófilo) y bajas (Psicrófilo); salinidades (halófilo) y presiones (barófilo) (Madigan, *et al.*, 2004).

La mayoría de las bacterias son inofensivas y algunas pueden ser hasta benéficas (Díaz, 1988) pero otras pueden ocasionar serios problemas al hombre causándole enfermedades que pueden llevarlo a la muerte (Raaymakers, 2000). Estas se denominan patógenas, dentro de esta clasificación encontramos a las bacterias de los géneros *Vibrio*, *Salmonella*, *Shigella* y *Enterococcus* todas causantes de enfermedades gastrointestinales (Pelzcar, 1997), en particular el género *Enterococcus* esta vinculado como un indicador de la calidad del agua marina (Salas, 2000).

7.6 CARACTERÍSTICAS DE LOS GÉNEROS DE ESTUDIO (Pelzcar *et al.*, 1997)

7.6.1 Familia *Enterobacteriaceae*. Las características de estos microorganismos son: bacilos pequeños, móviles por medio de flagelos peritricos, o inmóviles; sin cápsula, no forman esporas, no son ácido resistentes, crecen fácilmente en los medios de laboratorio; son quimiorganotrofos, fermentan muchos carbohidratos y alcoholes, generalmente aerobios, oxidasa negativos. Algunos géneros son *Salmonella*, *Shigella*, *Proteus*, *Escherichia*. La clasificación serológica de Kauffman White para *Salmonella* incluye más de 800 especies o serotipos (Pelzcar *et al.*, 1997) .

7.6.2 Género *Salmonella*. Son bacilos gram negativos de 0,5 a 0,7 por 1 a 3µm que no forman esporas. Se mueven por flagelos periféricos y aunque son anaerobias facultativas se desarrollan bien en los medios de cultivo ordinarios en presencia de oxígeno. Tienen varias especies que son patógenas para el hombre y otros animales, diferenciándose de otros microorganismos entéricos y entre su género por reacciones bioquímicas, aspectos de las colonias en medios de cultivo diferenciales y por tipificación serológica (Pelzcar *et al.*, 1997).

7.6.3 Aspectos generales de *Salmonella* en el medio ambiente. Estas bacterias potencialmente patógenas se presentan naturalmente en el medio acuático y se asocia su presencia con altos niveles de bacterias coliformes (Escobar, 1988). Evidencian una posible peligrosidad en los sectores de baño próximos a los sitios de descarga de aguas negras (Escobar, 1988b) y son responsables de la gastroenteritis y fiebre tifoidea en el hombre (Fers, 2005). Asimismo, causa lesiones en las aletas de los peces (Kvenberg, 1991)

7.7 Género *Shigella*. Son bacilos gram negativos inmóviles que miden 0,4 a 0,6 por 1,0 a 3,0µm. Su desarrollo óptimo es de 37°C en condiciones de aerobiosis. No licúan la gelatina ni producen H₂S, fermentan varios carbohidratos con la notable excepción de la lactosa produciendo ácido sin gas. La lactosa no es atacada (excepto por *Shigella sonnei*) que puede producir ácido en 3 o 9 días.

7.7.1 Aspectos generales de *Shigella* en el medio ambiente. Estas bacterias potencialmente patógenas están presentes generalmente en las aguas residuales no tratadas (EPA, 1999). Es resistente al efecto osmótico de la alta concentración de Sal y su supervivencia depende de la temperatura. *Shigella* persiste en el agua por periodos mayores a 25 días a una temperatura de 13 °C y por cuatro días a 37 °C (Gelderich, 1972). Es responsable de producir fuertes diarreas en niños en Venezuela (Delgado *et al.*, 1999). A principios del siglo pasado estas bacterias

ocasionaron muchas muertes debido a que se tenían malas practicas de higiene en la manipulación de alimentos, sin embargo en 1983 los Países Bajos reportaron personas enfermas de shigelosis e incluso muertes a causa de la ingesta de ostras crudas infectadas, se reveló que esta enfermedad es transmitida por el hombre portador; por lo cual se recomendó practicas sanitarias mas exhaustivas en el procesamiento de mariscos (Kvenberg, 1991).

7.8 Familia Vibrionaceae. Son bacilos cortos, rectos o curvos, generalmente móviles por poseer flagelos polares. Son quimiorganotrofos, con metabolismo fermentativo y respiratorio. Se les encuentra en aguas dulces, así como en agua de mar y ocasionalmente en peces y humanos. Algunas especies son patógenas. *Vibrio cholerae* es el agente causal del Cólera. En los últimos años se ha identificado a *Vibrio parahemolyticus* como el agente causal de varias epidemias de enteritis aguda (Pelzcar *et al.*, 1997).

7.8.1 Género Vibrio. Se compone de un grupo de microorganismos relacionados que se caracterizan por ser bacilos curvos gram negativos que algunas veces se ven en cultivos de crecimiento activo formando cadenas como una S o en espiral casi todas las especies del género son al parecer, saprofitas o parásitas inofensiva. Gran número son halófilas, algunas luminiscentes y muchas viven en el suelo o en medios marinos. La mayor parte son móviles con uno o tres flagelos polares; aerobios o anaerobios facultativos. Todos los vibriones tiene antígeno H y O los vibriones cólera, los biotipos y EL TOR clásico, se diferencian de otros vibriones porque tienen el antígeno somático 01 que es específico. Así, otros vibriones que pierden este antígeno, algunas veces son llamados no aglutinantes (NAG) o vibriones no cólera (NCV). Cada uno de los dos biotipos patógenos se divide en dos subtipos serológicos llamados Inaba y Oga Wa, basándose en la presencia de un antígeno O subsidiario (Pelzcar *et al.*, 1997).

Aunque casi todos los miembros de esta familia son saprofitos que se encuentran en el agua, algunos son parásitos o patógenos del hombre y animales. La especie tipo de este género es *Vibrio cholerae*; estos microorganismos heterotróficos se desarrollan bien en medios de cultivo ordinario (Pelzcar *et al.*, 1997).

7.8.2 Aspectos generales de *Vibrio* en el medio ambiente. Investigaciones han establecido que *Vibrio cholerae* puede invadir algunas especies de algas, entrar en estado inactivo y esperar condiciones favorables que facilitan su re-emergencia como un agente infeccioso (Monroe y Colwell 1996; En: Raaymakers, 2002). Por otra parte se ha planteado la hipótesis de que el blanqueamiento de coral *Oculina patagónica* en las costas de Israel está asociado a la acción de *Vibrio shioli*, las cuales tienen correlación con el aumento de la temperatura del agua (Sanchez *et al.*, 2005). Un caso específico es en el Gran Caribe en donde se ha determinado la presencia de este género en *Montastrea* spp produciéndole la enfermedad de la banda amarilla (Cervino *et al.*, 2004).

Muchos tipos patogénicos de *Vibrio* también son habitantes en estuarios y se catalogan como buenos indicadores de contaminación en mariscos para consumo humano (Liston, 1991). Un caso serio de enfermedad es el cólera, producida por la bacteria *Vibrio cholerae* endémica de India (sudeste asiático), cuyas epidemias se han registrado en Europa, África, y norte de Sudamérica. Los casos leves se parecen a la gastroenteritis producida por los microorganismos de la paratifoidea, sin embargo, los graves son más típicos. *Vibrio cholerae* se transmite por contacto, también por alimentos y bebidas contaminadas y portadores convalecientes (Pelzcar *et al.*, 1997).

7.9 Familia Enterococaceae. El grupo de géneros de esta familia son diversos presentan células esféricas o levemente ovales. Gram positivos. No forman endosporas. Presentan motilidad infrecuente. Géneros de esta familia son:

Gemella, *Lactococcus*, *Leconostoc*, *Marinococcus*, *Melissococcus*, *Micrococcus*, *Pediococcus*, *Peptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Planococcus*, *Ruminococcus*, *Saccharococcus*, *Sarcina*, *Stapphylococcus*, *Stomatococcus*, *Streptococcus*, *Trichococcus*, *Vagococcus* y *Enterococcus* (Holt *et al.*, 1994).

7.9.1 Género *Enterococcus*. Células esféricas u ovoides de 0,6 a 2,0 por 0,6 a 2,5µm, presentes en pares o cadenas cortas. No forman endosporas, gram positivos. Si hay motilidad es por la presencia de flagelos, pero usualmente son escasos. Anaerobios facultativos, quimiorganotrofos con metabolismo fermentativo; una amplia gama de carbohidratos se fermenta con la producción principalmente del ácido láctico pero no forma gas en un pH de 4,2 a 4,6, sus requisitos alimenticios son complejos. Catalasa negativa. Generalmente tiene un crecimiento entre los 10°C y los 45°C (siendo el óptimo 37°C) en pH 9,6 con NaCl al 6,5% y con la bilis del 40%. Reduce raramente el nitrato. Fermenta la lactosa. Grupo serológico D de Lancefield. Presente en ambientes donde hay heces de vertebrados, puede causar infecciones patógenas (Holt *et al.*, 1994).

7.9.2 Aspectos generales de *Enterococcus* en el medio ambiente. Son un grupo de bacterias que habitan generalmente en aguas domésticas capaces de producir enfermedades en los peces (Toranzo *et al.*, 1997) y en el hombre, puesto que son muy difíciles de erradicar ya que presentan una gran resistencia a factores de estrés ambiental como la temperatura y pH (Godfree *et al.*, 1997); así mismo los estudios epidemiológicos desarrollados por la EPA en agua de mar arrojaron mayores coeficientes de correlación entre las densidades medias de enterococcus y la tasa de gastroenteritis asociada a recreación que los ofrecidos por otros indicadores microbiológicos (EPA, 1986).



8. ÁREA DE ESTUDIO

8.1 UBICACIÓN DE LA ZONA DE ESTUDIO

El Terminal Marítimo operado por la Sociedad Portuaria de Santa Marta está ubicado en el extremo occidental de la ciudad de Santa Marta sobre la Bahía del mismo nombre, situada entre los $11^{\circ}14'15''$ y $11^{\circ}15'30''$ de latitud norte y $74^{\circ}13'12''$ y $74^{\circ}14'30''$ de longitud oeste la cual presenta un área de 5 km^2 y una profundidad de entre 20m y 60m; considerado como el mejor puerto natural del Caribe colombiano (MINTRANSPORTE, 2000). Su conformación es abierta y su línea costera está limitada al norte y al sur por formaciones rocosas y en su parte central predomina una playa arenosa (Figura 3). Esta presenta una serie de características especiales determinadas por su exposición a los vientos y por encontrarse frente a la Sierra Nevada de Santa Marta, la cuál alcanza grandes alturas y determina cambios en la dirección y velocidad de los vientos que chocan contra ella, y en la distribución de las lluvias (Muller, 1979).

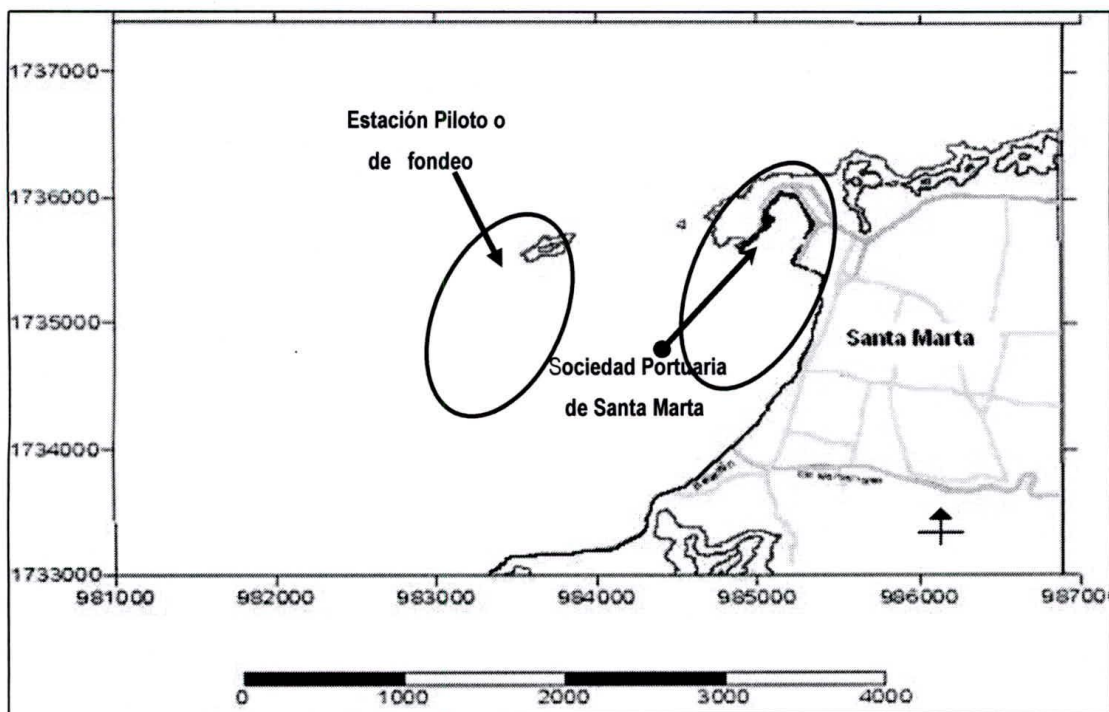


Figura 3. Mapa Bahía de Santa Marta. (Tomado y modificado de DADMA-UNIMAG, 2005)

8.1.1 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DE LA BAHÍA DE SANTA MARTA

Sus características fisicoquímicas están relacionadas con las épocas de sequía (brisa) y lluvia (Ramírez, 1983). Esta presenta diferentes valores mínimos y máximos de: oxígeno disuelto (22 % y 88% de saturación), pH (7.7 y 8.57), salinidad (30 UPS y 37.1 UPS) (Ramos, 2005).

8.2 DESCRIPCIÓN DEL TERMINAL MARÍTIMO PORTUARIO DE SANTA MARTA

Se caracteriza por sus buenas condiciones naturales como el abrigo y la profundidad, variables éstas que le otorgan una ventaja comparativa ante los demás puertos colombianos sobre el mar Caribe. Posee un clima seco con temperatura promedio de 28°C. En la zona se presentan vendavales con vientos

de hasta 40 nudos. En la actualidad cuenta con cinco terminales portuarios: 1- Sociedad Portuaria de Santa Marta S.A., 2.- ECOPETROL S.A., 3-DRUMMOND Ltd., 4-PRODECO S.A. 5- C.I. Cienaga. La primera es de Servicio Público y las cuatro siguientes de Servicio Privado (MINTRANSPORTE, 2000).

8.2.1 Sociedad Portuaria de Santa Marta (S.P.S.M.). El acceso a la S.P.S.M. se encuentra señalizado por el faro de Morro Grande y dos boyas que delimitan la entrada segura. Ofrece en la actualidad una profundidad de 70 – 120 pies; El Terminal se enfoca hacia la operación de carga general, carga en contenedores y carga a granel su infraestructura está extendida en 36.58 hectáreas. El calado en los muelles 1 y 2 está entre 36 y 42 pies y por su longitud de 321 m, es la zona preferida para atender barcos de hasta 42,000 toneladas. Frente a los muelles 1 y 2 están ubicados los patios carboneros que corresponden a los muelles 6 y 7 respectivamente (Figura 4 y 5).



Figura 4. Vista aérea de la Terminal Portuaria de Santa Marta.
(Tomado y modificado de Jelsoft, 2005)



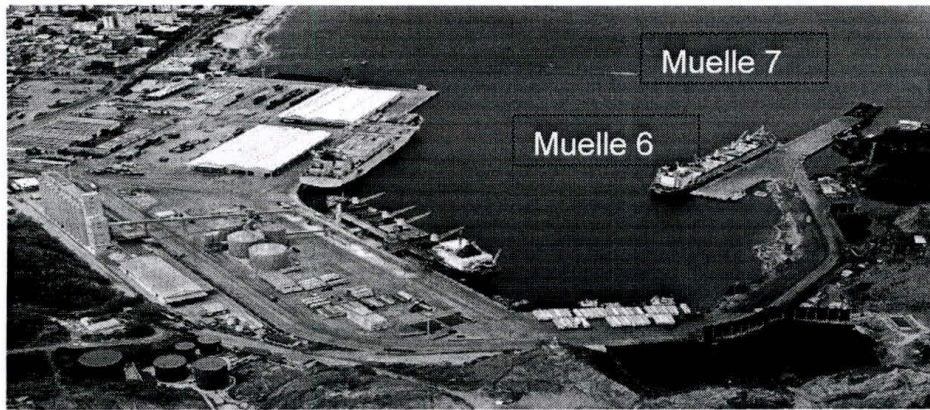


Figura 5. Vista aérea de la Terminal Portuaria de Santa Marta
(Tomado y modificado de Jelsoft, 2005)

8.2.2 ECOPETROL S.A. El Terminal se encuentra localizado al sur de la bahía de Gaira, a 8 millas Sur-Oeste de la ciudad de Santa Marta. El área de Pozos Colorados está localizada en una zona particularmente árida con temporada de fuertes vientos durante seis meses al año.

El Terminal marítimo fue construido en el año 1963, consta de siete boyas de amarre sujetas al lecho marino por medio de cadenas con anclas de fondeo y entre sí proyectan una configuración en forma de semiherradura, con capacidad máxima para tanqueros de eslora de 400 m, manga de 35 m y un tonelaje muerto (DWT) de 69,000 toneladas a un calado máximo de 45 pies. Estas boyas se encuentran a 2,333 m de la línea de la costa.

8.2.3 DRUMMOND Ltd. Localizado en el municipio de Ciénaga, en el Km. 10 de la vía Ciénaga - Santa Marta. Es un muelle privado orientado al manejo de carbón que la Drummond extrae de La Loma (Boquerón) en el departamento del Cesar. Dispone de una línea férrea circular, instalaciones de descargue rotatorio de vagones y un apilador mecánico de carbón.

Se utiliza el método de transbordo de barcaza. Las barcasas son cargadas en el muelle de cargue el cual tiene una extensión de 150 m y 14 m de ancho con un calado de cuatro metros, adecuado solamente para remolcadores, botes de tripulación y barcasas. Está localizado al sur de Punta Brava. El aeropuerto Simón Bolívar está localizado a 4km al norte del embarcadero. Dispone de dos puntos de cargue y una banda transportadora de 18 m de ancho para atender barcasas con capacidad entre 3,100 DWT (eslora 79 m, manga 16 m) y 1,600 DWT.

8.2.4 PRODECO S.A. Localizado en Punta Ebano al sur del aeropuerto Simón Bolívar, Puerto Zúñiga, Santa Marta; es utilizado para la carga de carbón mediante barcasas; su muelle es perpendicular a la línea de costa en forma de T mide 125 metros de largo y 6,25 de ancho (CPSM, 2006)

8.2.5 C.I. CIÉNAGA S.A. Ubicado en el km64 vía Troncal del Caribe Barranquilla, Santa Marta, Municipio de Cienaga, terminado de construir en noviembre de 2005, es utilizado para la carga de buques con carbón en fondeo con grúa flotante y barcaza (CPSM, 2006).



9. METODOLOGÍA

9.1 FASE DE CAMPO

Se muestrearon los tanques de lastre de los buques de tráfico internacional que deslastraron en la zona de jurisdicción del Puerto de Santa Marta. Para esto, se tuvo en cuenta la programación de los terminales portuarios y agencias marítimas. Al confirmar el arribo de un buque, se realiza el monitoreo en el momento de la inspección oficial que deben efectuar las autoridades competentes (DAS, Salud Distrital, Antinarcóticos ICA y Capitanía de Puerto) en los muelles de la Sociedad Portuaria y en la zona de fondeo para los buques que se dirigen a los terminales Drummond, Prodeco, etc. Al ingresar, se solicitó una copia del formato A.868(20) 1997 de la OMI (Anexo 1) y autorización para proceder a la toma de muestra

9.1.1 Selección de la muestra y tipo de embarcaciones a muestrear. Se recolectaron muestras microbiológicas de agua de los tanques de lastre de embarcaciones de tráfico internacional procedentes de diferentes regiones del mundo, que solo deslastraron en aguas jurisdiccionales de Santa Marta. En total se tomaron muestras a 21 barcos arribados durante el periodo de enero a junio de 2006. Por razones de logística y límite en el tiempo que facilitan las autoridades para abordar el buque, solo se pudo muestrear un tanque, logrando monitorear el último tanque lastrado o en su defecto el que el Capitán de la nave determinó por razones de logística a bordo.

Para la toma de muestras se siguieron tres metodologías que se detallan a continuación (Rondon *et al.*, 2003):

9.2.1 Acceso Vía *manhole*. Cuando se tiene acceso *manhole* se realizaron tres lances con botella *van Dorn* de tres litros de capacidad a diferentes profundidades (fondo, medio y superficial) dependiendo la profundidad del tanque a muestrear (Figura 6). Con el fin de obtener una muestra homogénea del agua de lastre se mezclaban las aguas de los tres lances realizados en un balde de 10 litros

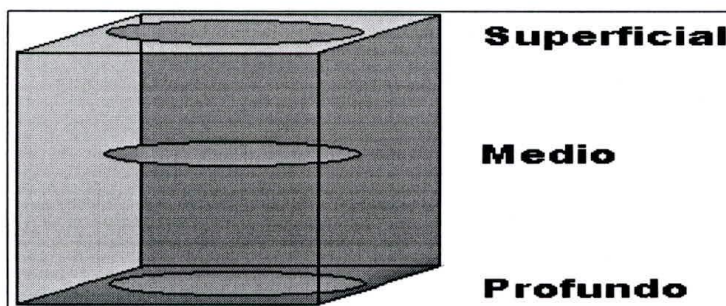


Figura 6. Muestreos a diferentes profundidades utilizando la Botella van Dorn

9.2.2 Deslastrado en cubierta. Cuando la abertura del *Manhole* no es completa el agua se vierte sobre cubierta a gran presión por lo cual se toma la muestra de agua antes de que esta toque la cubierta a fin de evitar contaminación, esta agua fue recolectada en un balde de 10 litros.

9.2.3 Moto bomba. Cuando por diversos motivos no se puede acceder a *Manhole* o al deslastrado en cubierta se procedió a tomar la muestra desde la moto bomba, que surte los tanques ubicados en el cuarto de maquinas, recolectando 10 litros en un balde.

9.3 Recolección de las muestras de agua de lastre. Para cualquiera de los métodos de extracción, el agua de lastre recolectado fue vertido en cuatro frascos previamente esterilizados de 1000ml cada uno correspondientes a los géneros en estudio: *Vibrio*, *Salmonella*, *Shigella* y *Enterococcus*.

9.4 Medición de factores fisicoquímicos. Se midió salinidad con una sonda Termo Electron Corporation marca Orion 145At (± 0.01) y pH con ayuda de un pH-metro Metrohm 744 (pH 0-14; 0-80°C), temperatura y oxígeno disuelto con la sonda Oxi 315i WTW/Set, precisión $\pm 0,01$. La determinación de nutrientes (Amonio, Nitrito, Nitrato, Ortofosfatos y Silicatos) se llevo cabo teniendo en cuenta las metodologías propuestas Strickland y Parsons (1972). Cabe destacar que el oxígeno disuelto en las muestras obtenidas por el método de deslastrado en cubierta y extracción por moto bomba no pudo ser medido por la previa saturación al entrar en contacto con el aire.

9.5 FASE DE LABORATORIO

La técnica que se llevo a cabo fue filtración por membrana, la cual es útil para el análisis microbiológico del agua potable y aguas naturales. Requiere el uso de filtros de membrana, los cuales varían según el fabricante como resultado de los diferentes métodos industriales para su elaboración y su respectivo control de calidad (APHA, 1998). Los filtros de membrana para análisis de agua deben tener las siguientes especificaciones:

- a. Diámetro de 47mm y 0,45 μm de diámetro de poro; el 70% del área del filtro debe contener poro.
- b. El agua sobre el filtro difunde a 15 s, sin observarse manchas secas en el mismo.
- c. Las proporciones de Flujo son 55mL/min/cm² a 25°C y a presión de 93kPa.
- d. Los Filtros son no tóxicos, libre de crecimiento bacteriano.

9.6 Procesamiento de la Muestra. Para proceder con la respectiva técnica se lleva a cabo todos los procedimientos de asepsia (APHA, 1998). Luego se separa el embudo de la base del filtro y se coloca la membrana de 0,45 μm de tamaño de

poro sobre el portafiltros de la base del mismo utilizando pinzas de punta plana o guantes de goma para no lesionarlas; se coloca el embudo sobre la base, teniendo cuidado de no lesionar la membrana y que esta quede bien centrada; este procedimiento se lleva a cabo de la misma forma para cada género en estudio. Se filtro 500 ml de la muestra de agua para determinar la presencia de bacterias patógenas del género *Vibrio*, *Shigella* y *Salmonella*. Para el recuento de UFC/100 ml del género *Enterococcus* se filtro diferentes volúmenes (100ml, 50 y 10ml). Luego se pone en marcha el sistema de vacío, una vez filtradas todas las muestras se apaga el sistema de vacío y se separa el embudo de la base del filtro, se retira con pinzas estériles la membrana filtrante, luego se procede como se describe a continuación para cada género a estudiado:

9.6.1 Presencia o ausencia de *Salmonella* sp. en el agua de lastre. Se realizó en tres etapas:

- Etapa de pre-enriquecimiento: Se tomó un filtrado de 500 ml de agua de lastre y se incubó en 100 ml de agua peptonada tamponada durante 6-8 h. a 35°C (APHA, 1998).
- Etapa de enriquecimiento: Se tomó 1 ml del medio pre-enriquecido y se inoculó en 10 ml de caldo tetrationato durante 18 h. a 43°C y Caldo Selenito durante 24h a 37°C.
- Aislamiento: De la fase de enriquecimiento se tomó con un asa redonda una muestra para realizar el aislamiento en agar *Salmonella Shigella* S-S y en agar bismuto sulfito, luego se incubó durante 48 h. a 35°C.

9.6.2 Presencia o ausencia de *Shigella* sp. en el agua de lastre.

- Etapa de pre-enriquecimiento. Se colocó la membrana utilizada durante la técnica de filtración en agar Mac Conkey y se dejó incubar durante toda la noche a 35°C (APHA, 1998).
- Etapa de enriquecimiento: Se raspó del filtro las colonias transparentes y se pasa a caldo Selenito a 35°C durante 6hs.
- Etapa de aislamiento Se tomó con un asa redonda para realizar el aislamiento en agar Mac Conkey y Agar S-S durante 24hs a 35°C.

9.6.3 Determinación de *Vibrio*. Se llevó a cabo en dos etapas (APHA, 1998):

- Etapa I: Se filtra 500 ml de agua de lastre y se adicionó el filtro en 100 ml de agua peptonada alcalina al 0,1 %, pH de 8,6. Luego se llevó a incubar a 37°C durante 12hs.
- Etapa II: Se toma con un asa redonda una muestra del pre-enriquecimiento para realizar el aislamiento de las colonias en agar TCBS, se llevó a incubar durante 24hs a 35°C.

9.6.4 Presencia o ausencia de *Enterococcus* sp. en el agua de lastre. Para esta técnica como es un recuento de la Unidades Formadoras de Colonia (UFC) se tomó diferentes volúmenes de la muestra (100, 50 y 10 ml). Luego se tomó el filtro de 0,45µm y se lleva al agar selectivo para *Enterococcus* (Slanetz Bartley) y se incuba durante 48hs A 35°C. Luego de este tiempo se contabilizó las UFC de color púrpura (APHA, 1998).

9.6.5 Caracterización microscópica y macroscópica. Se realizó una caracterización macroscópica a todas las colonias estudiadas con el estereoscopio WILL STRÜB WETZLAR en aumento de 2X y 4X respectivamente (Gómez, *et al.*,

2006) y su observación de tinción Gram con el microscopio AXIOLAB ZEISS en aumento de 100X/ 1,25oil.

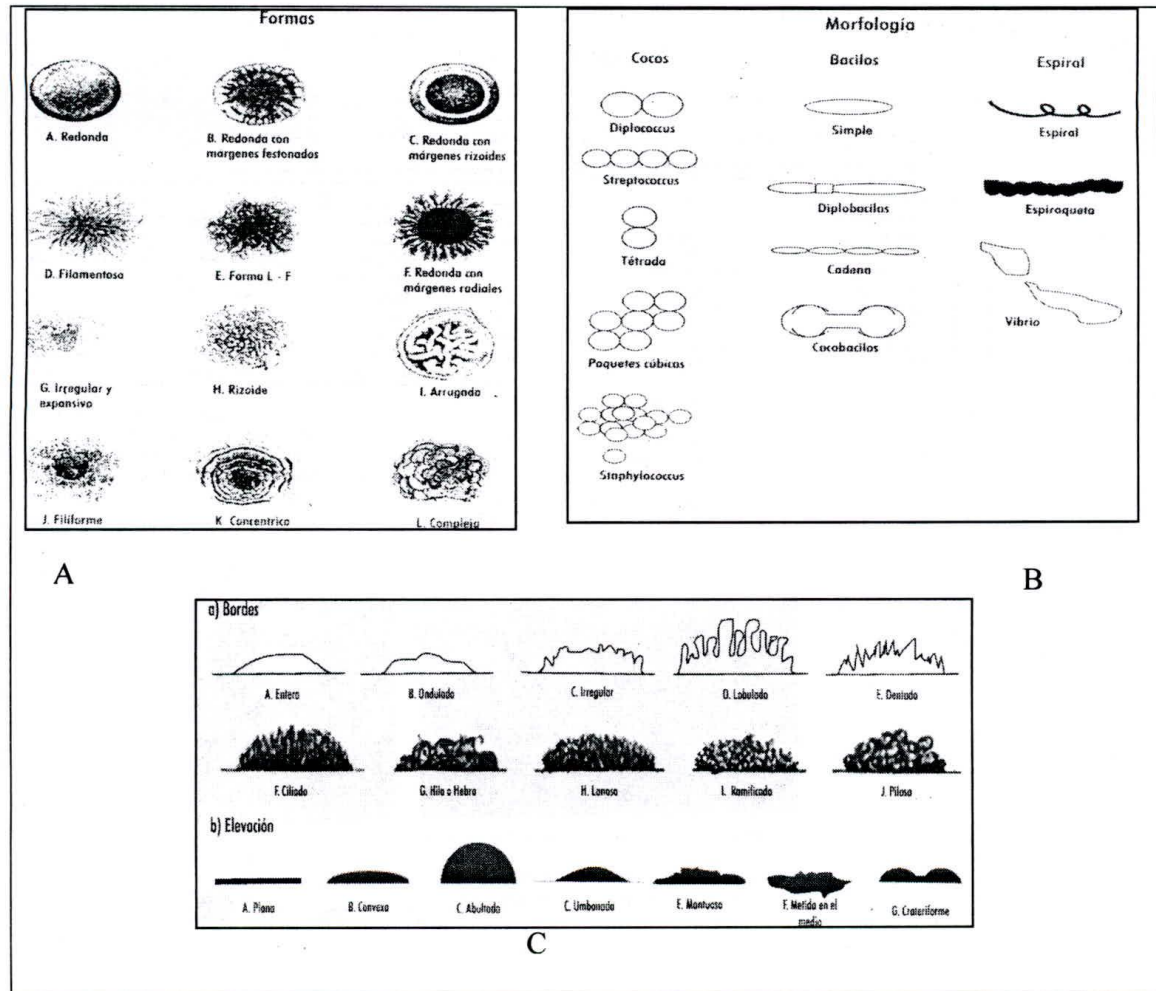


Figura 7. Características macroscópicas y microscópicas de colonias bacterianas. Referencia: A: Formas de las colonias bacterianas; B: Morfología de las bacterias; C Bordes de las colonias bacterianas. (Tomado y Modificado de Gómez *et al.*, 2006)

9.6.6 Análisis bioquímico. Algunos morfotipos determinados durante la caracterización macro y microscópica fueron aislados de forma aleatoria, para luego confirmar los géneros mediante pruebas bioquímicas. Para ello, se utilizaron paneles de BBL Crystal® Gram positivos, Gram negativos y API 20®.

9.7 FASE DE GABINETE:

Los datos y las descripciones macro y microscópicas de los microorganismos en estudio fueron almacenados en base de datos utilizando el software *Microsoft Excel*® utilizando un formato previamente diseñado (Anexo 3). Asimismo, se registraron los puertos de origen, tiempo de confinamiento, nombre y código de la embarcación muestreada. Además se tomaron fotografías de algunas colonias observadas.

Para el cálculo de las UFC se aplicó la siguiente fórmula (APHA, 1998):

$$\text{UFC } \textit{Enterococcus} = (\text{N}^\circ \text{ Colonias contadas} / \text{Volumen Filtrado} \times \text{Factor de Dilución}) \times 100$$

Con la información obtenida se realizó un análisis netamente exploratorio, descriptivo y comparativo, utilizando una estadística no paramétrica. A los valores cuantificables del género *Enterococcus* se les calculó el promedio, mediana, desviación estándar, coeficiente de variación y valores máximo y mínimo. Dichos datos se asociaron según las metodologías de extracción que más se utilizaron en el muestreo (manhole y deslastrado en cubierta). Se descartó el correspondiente a recolección por motobomba, ya que solo se aplicó una vez, considerándose no representativa.

Para calcular el coeficiente de variación se tuvo en cuenta la siguiente fórmula:

$$CV = \frac{S}{\bar{X}} \times 100 \text{ Donde; } S \text{ es el desvío estándar y } \bar{X} \text{ es el promedio de los datos.}$$

Cuando el coeficiente de variación es menor al 30% los datos se distribuyen homogéneamente, pero si es mayor al 30% los datos se distribuyen heterogéneamente.

Para verificar una posible correlación con el género *Enterococcus* y las variables físico-químicas salinidad, nutrientes, temperatura y pH, se procedió a transformar los datos en logaritmos base 10 para luego efectuar regresiones lineales, recurriendo al Software Excel®.

Para los valores cualitativos de “presencia” o “ausencia” y sus características morfológicas se recurrió a una matriz en forma binaria, siendo 1 = presencia y 0 = ausencia. Posteriormente, se verificó la posible relación con el origen del agua, tiempo de confinamiento, variables físico-químicas, salinidad, nutrientes, temperatura y pH aplicando la prueba no paramétrica G (Zar, 1999).

Con el fin de comprobar alguna similaridad o disimilaridad entre los barcos muestreados y la presencia de los géneros bacterianos en estudio, se aplicó la prueba no paramétrica cualitativa de Jaccard (Pielou, 1984), empleando el software estadístico Biodiversity® 2.0.



10. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

10.1 PRESENCIA DE LOS GÉNEROS BACTERIANOS

Se pudo determinar que en todas las embarcaciones muestreadas estaban presentes los géneros en estudio. Se verificó que el 55% de los buques presentaban en sus aguas de lastre *Enterococcus*, *Vibrio*, *Shigella* y *Salmonella*. Por otra parte, solo el 2% presentó al menos 2 géneros bacterianos (tabla 1).

Tabla 1. Presencia-Ausencia de los diferentes géneros bacterianos en las muestras de las aguas de lastre de los barcos de tráfico internacional arribados al puerto de Santa Marta durante el periodo comprendido entre enero y junio de 2006. Referencia: (1) Presencia. (0) Ausencia

Código de la Embarcación	<i>Enterococcus</i>	<i>Vibrio</i>	<i>Shigella</i>	<i>Salmonella</i>	Total por embarcación	Porcentaje en totales de barcos
B14	1	0	1	0	2	10%
B21	1	1	0	0	2	
B3	1	1	1	0	3	
B5	1	1	1	0	3	35%
B8	1	0	1	1	3	
B18	1	1	0	1	3	
B19	1	0	1	1	3	
B20	1	1	1	0	3	
B22	1	1	0	1	3	
B4	1	1	1	1	4	55%
B6	1	1	1	1	4	
B9	1	1	1	1	4	
B10	1	1	1	1	4	
B11	1	1	1	1	4	
B12	1	1	1	1	4	
B13	1	1	1	1	4	
B15	1	1	1	1	4	
B16	1	1	1	1	4	
B17	1	1	1	1	4	
B23	1	1	1	1	4	
Total por géneros bacterianos	20	17	16	15	69	
Porcentaje en totales por género	29%	24%	24%	23%	100%	

10.1.1 Genero *Enterococcus*: La presencia de este género determina la calidad microbiológica del agua de lastre (OMI, 2004), indicando que esta presenta contaminación fecal, puesto que el habitat normal de este microorganismo es el intestino del hombre y los animales de sangre caliente (Jara, 2003).

Según los estudios realizados Godfree *et al.*, (1997) *Enterococcus* es resistente al estrés ambiental, esta característica biológica es un factor importante a tener en cuenta pues, aunque es necesario realizar mas monitoreos existe la posibilidad de que sobreviva en el medio marino ocasionado efectos negativos sobre el ecosistema.

De otra parte, la legislación de Usos del Agua y Residuos Líquidos Decreto 1594 de 1984 no contemplan el conteo de *Enterococcus* como género indicador de contaminación fecal en aguas marinas de uso recreativo primario y secundario, ni existe una legislación sobre el vertido de aguas de lastre sobre las costas colombianas haciendo vulnerable los ecosistemas de la nación pues, este género ha sido recomendado por la (EPA 1986) y la Organización Mundial de la Salud - OMS (2003) como indicador de contaminación fecal para aguas marinas el cual ha sido adoptado por México como indicador de contaminación fecal en sus playas (Gamón 2006).

Además, teniendo en cuenta los parámetros utilizados por las legislaciones de Argentina y México y las recomendaciones que hace la Agencia de Protección del Medio ambiente de los Estados Unidos (Tabla 2) se puede probar que el promedio obtenido (Tabla 3) exceden estos parámetros.

Tabla 2. Parámetros utilizados por legislaciones internacionales para el conteo de *Enterococcus* en las playas de uso recreacional. (EPA, 1986; Ministerio de Recursos Naturales de Argentina, 2003; OMI, 2004; Gamón, 2006).

Legislación Mexicana	<500 UFC /100ml
Legislación Argentina	<104 UFC/100ml
OMI (2004)	<100UFC/100ml
Environmental Protection Agency (EPA)	<35 UFC/100ml

Teniendo en cuenta lo anterior, es prioritario contemplar en la legislación de Usos del Agua y Residuos Líquidos Decreto 1594 de 1984 el conteo del genero *Enterococcus* como indicador de contaminación fecal en aguas marinas de uso recreativo primario y secundario y reglamentar el vertido de aguas de lastre en las costas colombianas a fin de reducir la vulnerabilidad de los ecosistemas marinos de la nación.

Tabla 3. Unidades formadoras de colonia por 100ml de *Enterococcus* agua de lastre de los barcos de tráfico internacional arribados al puerto de Santa Marta durante el periodo de estudio.

CODIGO DE LA EMBARCACION	Enterococcus UFC/100ml
B3	2900
B4	1000
B5	300
B6	200
B8	40
B9	20
B10	360
B11	160
B12	30
B13	2
B14	630
B15	1600
B16	1100
B17	950
B18	1200
B19	100
B20	150
B21	40
B22	40
B23	110

Continuación tabla 3

Abundancia Total	10932
Promedio	546,6
Mediana	180
d.s	735,55
C.v	134,57

- **UFC/100ml *Enterococcus*.** La abundancia de *Enterococcus* en las embarcaciones muestreadas durante el periodo de estudio fue de 10932 UFC/100ml, asimismo se registro una gran dispersión en los datos, con una fluctuación muy amplia entre mínimos y máximos (tabla 3).

En la Figura 8 se observa que el máximo número de unidades formadoras de colonia (UFC) lo exhibe el barco B 3 con 2900 UFC/100ml; el mínimo valor esta presente en el barco B13 con 2 UFC/100ml.

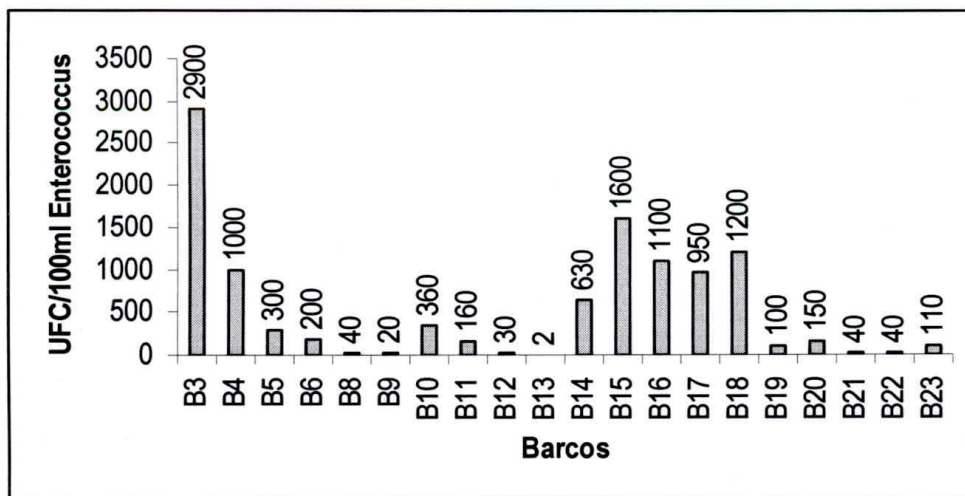


Figura 8. Unidades formadoras de colonia (UFC) de *Enterococcus* en las muestras de 100ml de aguas de lastre de los barcos de tráfico internacional arribados al puerto de Santa Marta durante el periodo comprendido entre enero y junio de 2006.

La embarcación MV Cape Carmel (B03) realiza recambio de agua en medio del Océano pero no determina el tipo de metodología empleada lo cual no permite estimar dicho método; sin embargo la evidencia microbiológica permite predecir que es dudoso el reporte presentado pues, si el recambio se realizó en medio del Océano Atlántico es muy poco probable presentar el elevado número de *Enterococcus* ya que su hábitat es estuarino y costero donde existe descarga de alcantarillado (Volterra *et al.*, 1986; Sinton y Donnison, 1994; Audicana *et al.*, 1995; Borrego *et al.* 2002 En: WHO, 2003).

10.1.4 Género *Vibrio*: En la figura 9 se observa que la embarcación MV Ballangen (B18) realiza recambio en las coordenadas 22°54'N/74°39'W (Mar Gran Caribe) pero lo hace siguiendo la metodología de flujo continuo o FT sin embargo, la evidencia microbiológica demuestra que esta metodología no es la mas apropiada para disminuir potencialmente el riesgo de introducción de patógenos vía agua de lastre; pues según las observaciones realizadas por Mimura *et al.*, (2005) existen cambios significativos en el número de Morfotipos del genero *Vibrio* cuando la embarcación realiza recambio de agua lejos de la costa y siguiendo la metodología de vaciado llenado o ER.



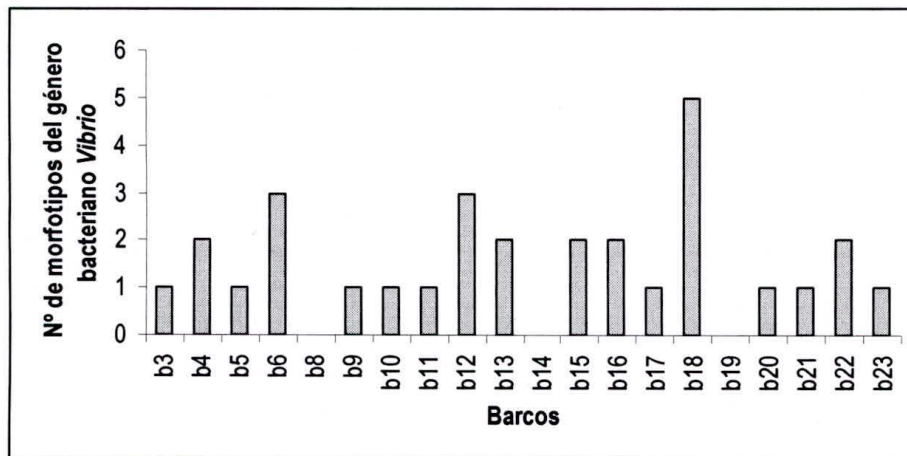


Figura 9. Numero de Morfotipos bacterianos del genero *Vibrio* encontrados en las aguas de lastre de los barcos de tráfico internacional arribados al puerto de Santa Marta durante el periodo comprendido entre enero y junio de 2006.

10.1.6 Género *Salmonella*: En la Figura 10 se observa que el máximo número de Morfotipos lo presenta la embarcación MV Stefania (B17), proveniente de New Orleans presenta el mayor número de Morfotipos para el género *Salmonella*; no realiza los procedimientos de recambio de agua de lastre en alta mar o al menos no lo evidencia en los formatos A868 de la OMI.

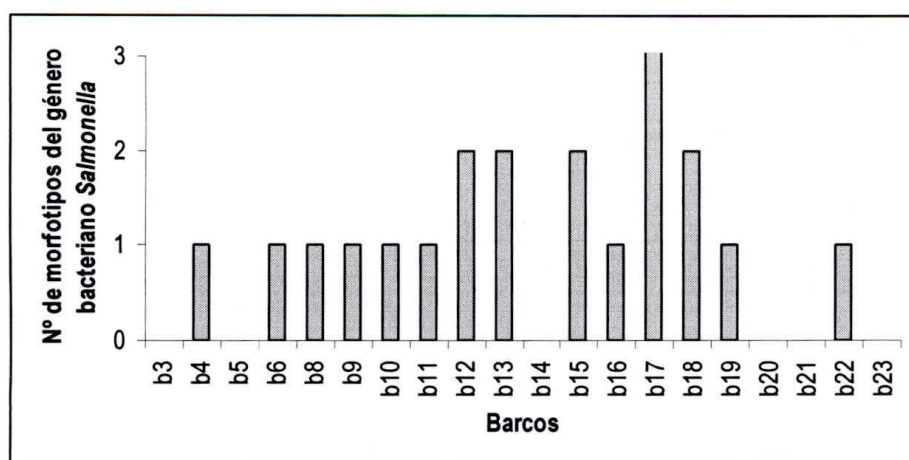


Figura 10. Numero de Morfotipos bacterianos del género *Salmonella* encontrados en las muestras de aguas de lastre de los barcos de tráfico internacional arribados al puerto de Santa Marta durante el periodo comprendido entre enero y junio de 2006.

Se evidencia claramente que el no acatamiento de esta norma es perjudicial y genera un alto riesgos en la introducción de patógenos por esta vía al Puerto de Santa Marta. Según el trabajo realizado por Ramaiah *et al.*, (2004) en el Puerto de Mombay (India) el no acatamiento de esta norma perjudica gravemente la zona pues, a causa del vertimiento de esta agua el Puerto de Bombay es uno de los mas contaminados de Asia.

10.1.5 Género *Shigella*: En la Figura 11 se observa que el mayor número de Morfotipos registrados para este genero fue en la embarcación B15 proveniente de *New Orleans* que realiza el recambio del agua de lastre en la coordenada 19°29'N/82°40'W (Mar Gran Caribe), mediante la metodología de Reflujo o FT; si bien acata la norma establecida el riesgo potencial de invasión no se ve reducido; aunque, este genero está reportado para las playas de Santa Marta por Escobar (1988) lo cual no implica que este género sea autóctono, pues se necesita un mapeo genético para observar similitudes (McCarthy *et al.*, 1994).

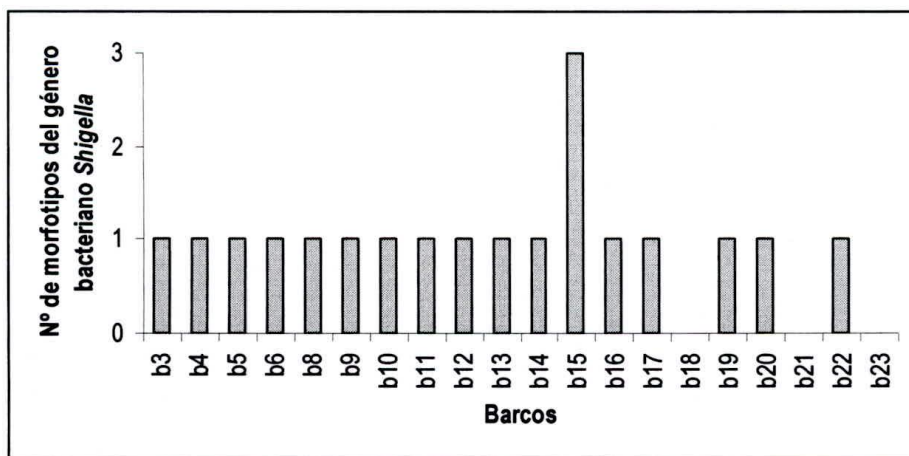


Figura 11. Numero de Morfotipos bacterianos del genero *Shigella* encontrados en las muestras de aguas de lastre de los barcos de tráfico internacional arribados al puerto de Santa Marta durante el periodo comprendido entre enero y junio de 2006.

De otro lado, la salinidad y el silicato registrado para esta muestra según Acosta y Navarro (2005) es característico de zonas dulceacuícolas por lo cual resulta dudoso que dicho buque haya realizado la maniobra de recambio en la coordenada geográfica que detalla.

Por otra parte, teniendo en cuenta el origen portuario (New Orleans) se puede considerar que el agua proviene de esta localidad, la cual en el año 2005 fue azotada por un huracán de categoría 5 dañando la infraestructura del alcantarillado contaminando las aguas con patógenos; de hecho este género es propio de aguas servidas (EPA, 1999).

10.2 CARACTERIZACIÓN MACRO Y MICROSCÓPICA DE ALGUNOS MORFOTIPOS.

Durante el tiempo de estudio, se pudieron determinar algunos Morfotipos de tres de los géneros propuestos (Tabla 4). La diversidad presente entre ellos puede atribuirse a las metodologías de recambio empleadas o al origen del agua en donde se efectuaron (Mimura *et al.*, 2005). Al respecto, es importante mencionar que todos estos géneros son de medios estuarinos costeros o de zonas en donde se presentan descargas de aguas servidas (Escobar, 1988; EPA, 1999).

Tabla 4. Morfotipos de los géneros en estudio presentes en el agua de lastre de los barcos de tráficos internacionales arribados al puerto de Santa Marta durante el periodo de muestreo. Referencia (1) Presencia, (-) Ausencia

Código del buque	Morfotipo de los géneros en estudio																												Total de Morfotipo por buque				
	Vibrio																				Shigella			Salmonella									
	M 1	M 2	M 3	M 4	M 5	M 6	M 7	M 8	M 9	M 10	M 11	M 12	M 13	M 14	M 15	M 16	M 17	M 18	M 19	M 20	M 1	M 2	M 3	M 1	M 2	M 3	M 4	M 5		M 6	M 7	M 8	M 9
B3	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	
B4	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	4	
B5	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	3	
B6	-	1	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	5	
B8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	2	
B9	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	3	
B10	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	3	
B11	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	3	
B12	-	1	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1	-	-	-	1	-	-	-	6	
B13	-	-	-	-	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	4	
B14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	
B15	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	1	-	-	-	-	-	-	1	-	6	
B16	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	3	
B17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1	1	-	4	
B18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	5	
B19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1	3	
B20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	
B21	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	4	
B22	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	3	
B23	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	3	
TOTAL	1	6	4	2	1	1	1	1	1	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	17	1	1	6	1	2	2	1	4	2	1	2	-

A continuación se describen las características macro y microscópicas de cada morfotipo encontrado (M), teniendo en cuenta los cuatro géneros estudiados:

10.2.1 Género *Vibrio*: En total, se identificaron 20 Morfotipos. Esta diversidad reitera que este género es uno de los más dominantes en el medio marino (Pelczar, 1987) y la determinación de ellos, podría ser un indicador de deficiencias en la gestión a bordo de los buques. Al respecto, Mimura *et al.* (2005) sugieren que la diversidad de Morfotipos de este género se va reduciendo cuando se lleva a cabo el método de recambio de vaciado/llenado de los tanques.

Algunos morfotipos observados para este género se pueden observar en las siguientes fotografías.

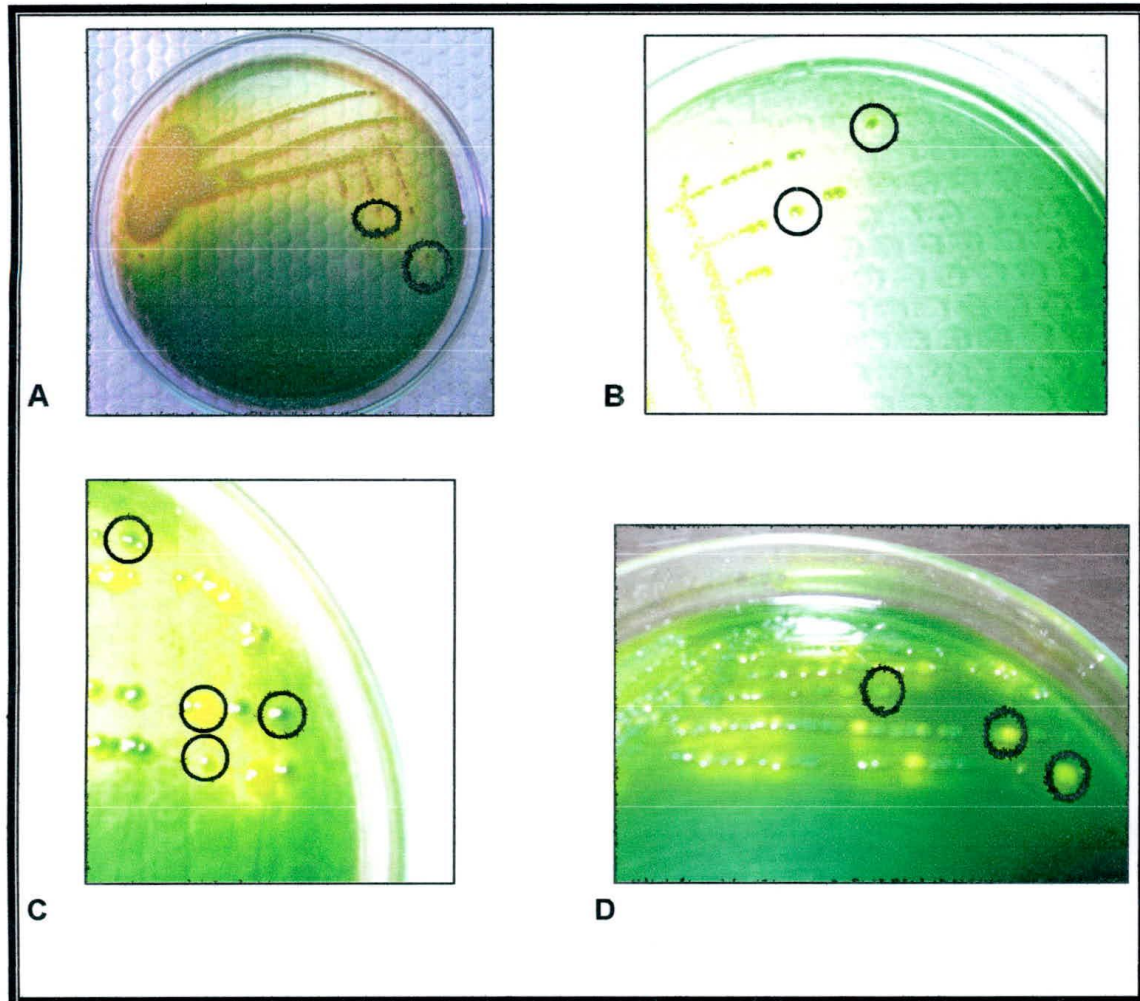


Figura 12. Fotografías de algunos morfotipos presuntivos para el género *Vibrio* en agar TCBS presentes en las aguas de lastre de las embarcaciones que arribaron al Puerto de Santa Marta durante el periodo de estudio. Referencia: **A:** Vista general de la caja de Petri con diversos morfotipos (M2-M10) de la embarcación B 15- **B:** Características del color de los morfotipos presentes en la embarcación B15 **C:** Diferentes morfotipos de la embarcación B 18 (M12, M13, M14, M15). **D:** Diferentes morfotipos de la embarcación B21(M17, M18,M19).

M1
Características macroscópicas: forma redonda, color verde oscuro, borde ondulado, elevación convexa
Tinción de Gram (microscópicas): Bacilos gran negativos
Puerto de Origen: Gibraltar; Reino Unido.
Tiempo de confinamiento: 7 días
Nombre y código de la embarcación: MV Cape Carmel (B3)

M2
Características macroscópicas: forma redonda, color verde oscuro, borde entero, elevación convexa
Tinción de Gram (microscópicas): Bacilos gran negativos
Puerto de Origen (*): Mobile (Estados Unidos); Newark (Estados Unidos) ; Hamburgo, (Alemania); Port Everglades (Estados Unidos); New Orleans (Estados Unidos); Mobile (Estados Unidos)
Tiempo de confinamiento (*): 3 – 10 días.
Nombre y código de la embarcación (*): Bestore tre (B4); Genco Carrier (B5); Castillo de San Jorge (B6); Darya bhakti (B12); M.V. Energy (B15); Bestore Tre(B16)

* para cada uno de las embarcaciones muestreadas, respectivamente.

M3
Características macroscópicas: forma ovoide, color verde oscuro, borde irregular, elevación convexa.
Tinción de Gram (microscópicas): Bacilos gran negativos
Puerto de Origen (*): Mobile (Estados Unidos); Hamburgo (Alemania); Hamburgo (Alemania)
Tiempo de confinamiento (*): 3 – 13 días
Nombre y código de la embarcación (*): Bestore tre (B4); Castillo de San Jorge (B6); MV Cape Saturn(B9)

* para cada uno de las embarcaciones muestreadas, respectivamente.



M4
Características macroscópicas: forma ovoide, color Verde oscuro, borde entero, elevación convexa
Tinción de Gram (microscópicas): Bacilos gran negativos
Puerto de Origen (*): Hamburgo (Alemania); Puerto Plata, (Republica Dominicana)
Tiempo de confinamiento (*): 7 – 10 días.
Nombre y código de la embarcación (*): Castillo de San Jorge (B6); Durbai faith (B10)

* para cada uno de las embarcaciones muestreadas, respectivamente.

M5
Características macroscópicas: forma irregular, color verde oscuro, borde irregular, elevación convexa
Tinción de Gram (microscópicas): Bacilos gran negativos
Puerto de Origen: Oquendo (Perú)
Tiempo de confinamiento: 14 días
Nombre y código de la embarcación: Panam Atlantic (B11)

M6
Características macroscópicas: forma ovoide, color verde claro, borde irregular, elevación convexa
Tinción de Gram (microscópicas): Bacilos gram negativos
Puerto de Origen: Puerto Everglades (Estados Unidos)
Tiempo de confinamiento: 2 días
Nombre y código de la embarcación: Darya bhakit (B12)

M7
Características macroscópicas: Forma redonda, color verde claro, borde ondulado, elevación convexa
Tinción de Gram (microscópicas): Bacilos gran negativos
Puerto de Origen: Puerto Everglades (Estados Unidos)
Tiempo de confinamiento: 2 días
Nombre y código de la embarcación: Darya Bhakti (B12)

M8
Características macroscópicas: Forma ovoide, color verde oscuro, borde entero, elevación convexa
Tinción de Gram (microscópicas): Bacilos gran negativos
Puerto de Origen: Antwerp (Bélgica)
Tiempo de confinamiento: 4 días
Nombre y código de la embarcación: MV Hansa Luebeck (B13)

M9
Características macroscópicas: Forma ovoide, color verde claro, borde entero, elevación convexa
Tinción de Gram (microscópicas): Bacilos gram negativos
Puerto de Origen: Antwerp (Bélgica)
Tiempo de confinamiento: 4 días
Nombre y código de la embarcación: MV Hansa Luebeck (B13)

M10
Características macroscópicas: forma redonda, color amarillo, borde entero, elevación convexa
Tinción de Gram (microscópicas): Bacilos gran negativos
Puerto de Origen (*): New Orleans (Estados Unidos); Brayton Point (Estados Unidos)
Tiempo de confinamiento (*): 6 -- 15 días
Nombre y código de la embarcación (*): MV Energy(B15); Gdansk (B23)

* para cada uno de las embarcaciones muestreadas, respectivamente.

M11
Características macroscópicas: forma redonda, color amarillo verdoso, borde entero, elevación convexa
Tinción de Gram (microscópicas): Bacilos gran negativos
Puerto de Origen (*): New Orleans (Estados Unidos); Las Mareas (Puerto Rico)
Tiempo de confinamiento (*): 20 -- 20 días
Nombre y código de la embarcación (*): MV Stefania (B17); Shophie Oldendorff (B22)

* para cada uno de las embarcaciones muestreadas, respectivamente.

M12
Características macroscópicas: forma ovoide, color amarillo verdoso, borde entero, elevación convexa
Tinción de Gram (microscópicas): Bacilos gram negativos
Puerto de Origen: Brunswick (Estados Unidos)
Tiempo de confinamiento: 4 días
Nombre y código de la embarcación: MV Ballangen (B18)

M13
Características macroscópicas: forma cuadrada, color amarillo verdoso, borde entero, elevación convexa
Tinción de Gram (microscópicas): Bacilos gran negativos
Puerto de Origen: Brunswick (Estados Unidos)
Tiempo de confinamiento: 4 días
Nombre y código de la embarcación: MV Ballangen (B18)

M14
Características macroscópicas: forma irregular, color amarillo verdoso, borde ondulado, elevación convexa
Tinción de Gram (microscópicas): Bacilos gran negativos
Puerto de Origen: Brunswick (Estados Unidos)
Tiempo de confinamiento: 4 días
Nombre y código de la embarcación: MV Ballangen (B18)

M15
Características macroscópicas: forma irregular, color verde azulado, borde ondulado, elevación convexa.
Tinción de Gram (microscópicas): Bacilos gram negativos
Puerto de Origen: Brunswick (Estados Unidos)
Tiempo de confinamiento: 4 días
Nombre y código de la embarcación: MV Ballangen (B18)

M16
Características macroscópicas: forma ovoide, color verde azulado, borde ondulado, elevación convexa
Tinción de Gram (microscópicas): Bacilos gran negativos
Puerto de Origen: Puerto Ketzal, (Guatemala)
Tiempo de confinamiento: 6 días
Nombre y código de la embarcación: Sheila Ann (B20)

M17
Características macroscópicas: forma ovoide, color amarillo verdoso, borde entero, elevación convexa.
Tinción de Gram (microscópicas): Bacilos gran negativos
Puerto de Origen: Dunkerque (Francia)
Tiempo de confinamiento: 9 días
Nombre y código de la embarcación: Gaia (B21)

M18
Características macroscópicas: forma irregular, color amarillo claro, borde entero, elevación convexa.
Tinción de Gram (microscópicas): Bacilos gram negativos
Puerto de Origen: Dunkerque (Francia)
Tiempo de confinamiento: 9 días
Nombre y código de la embarcación: Gaia (B21)

M19
Características macroscópicas: forma redonda, color amarillo verdoso, borde entero, elevación convexa
Tinción de Gram (microscópicas): Bacilos gran negativos
Puerto de Origen: Dunkerque (Francia)
Tiempo de confinamiento: 9 días
Nombre y código de la embarcación: Gaia (B21)

M20
Características macroscópicas: forma ovoide, color verde claro, borde entero, elevación convexa
Tinción de Gram (microscópicas): Bacilos gran negativos
Puerto de Origen: Brayton Point (Estados Unidos)
Tiempo de confinamiento: 15 días
Nombre y código de la embarcación: Gdansk (B23)

10.2.3 Género *Salmonella*: Fue el segundo morfotipo más diverso registrando nueve Morfotipos en las aguas de lastre. La diversidad observada puede ser debido al no acatamiento de la norma propuesta por la OMI (2004) y determina que el origen del agua es costero, estuarino o cercano a una zona donde se descargan aguas servidas, pues estos son hábitat comunes para este microorganismo (Escobar, 1988).

Algunos morfotipos observados para este género se pueden observar en las siguientes fotografías.

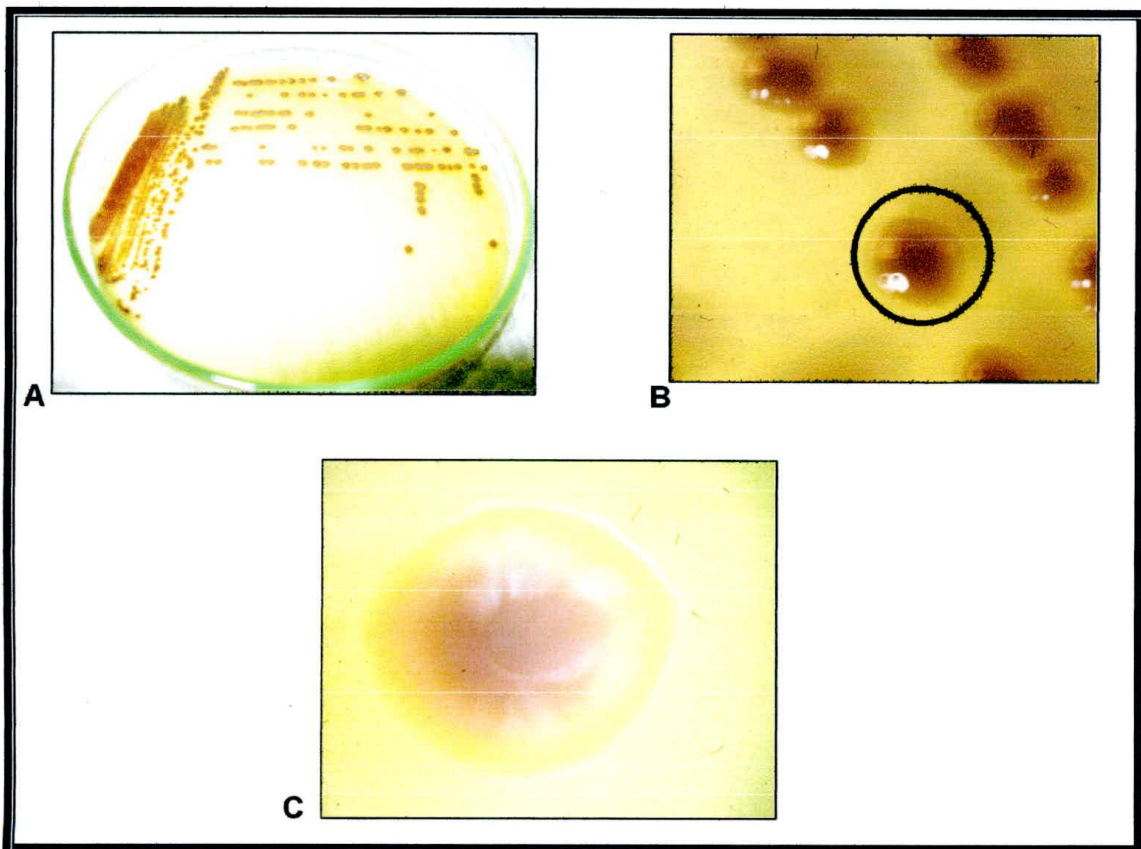


Figura 13. Fotografías de algunos morfotipos presuntivos para el género *Salmonella* en agar bismuto sulfito presentes en las aguas de lastre de las embarcaciones que arribaron al Puerto de Santa Marta. Referencia: A: Vista general de la caja de Petri con diversos morfotipos de la embarcación B 17 (M6, M7)- B: Detalle del morfotipo M4 de la embarcación B16. C: Detalle característico de estas colonias en agar bismuto sulfito a tras luz "ojo de pescado".

M1
Características macroscópicas: Forma redonda, color marrón con brillo metálico hay un oscurecimiento hacia el centro de la colonia, observándose a tras luz la forma de un ojo de pescado, borde entero, elevación convexa
Tinción de Gram (microscópicas): Bacilos gran negativos
Puerto de Origen (*): Mobile (Estados Unidos), Newark (Estados Unidos), Hamburgo (Alemania), Okendo (Perú), Puerto Everglades (Estados Unidos)
Tiempo de confinamiento: 2 – 14 días
Nombre y código de la embarcación (*): Bestore tre (B4); Genco Carrier (B5); MV Cape Saturn (B9); Panam Atlantic (B11); Darya Bhakti (B12)
*para cada uno de las embarcaciones muestreadas, respectivamente.

M2
Características macroscópicas: forma redonda, color marrón con brillo metálico hay un oscurecimiento hacia el centro de la colonia, observándose a tras luz la forma de un ojo de pescado, borde ondulado, elevación abultada.
Tinción de Gram (microscópicas): Bacilos gran negativos
Puerto de Origen: Hamburgo (Alemania)
Tiempo de confinamiento: 10 días
Nombre y código de la embarcación Castillo de San Jorge (B6)

M3
Características macroscópicas: forma redonda, color marrón con brillo metálico hay un oscurecimiento hacia el centro de la colonia, observándose a tras luz la forma de un ojo de pescado, borde ondulado, elevación convexa.
Tinción de Gram (microscópicas): Bacilos gran negativos
Puerto de Origen (*): Maracaibo, (Venezuela); Las Mareas, (Puerto Rico)
Tiempo de confinamiento: 7 - 20 días
Nombre y código de la embarcación (*): IVS Kingfisher (B8); Sophie Oldendorff (B22)



M4
Características macroscópicas: Forma ovoide, color marrón con brillo metálico hay un oscurecimiento hacia el centro de la colonia, observándose a tras luz la forma de un ojo de pescado, borde ondulado, elevación convexa.
Tinción de Gram (microscópicas): Bacilos gran negativos
Puerto de Origen (*): Puerto Plata (Republica Dominicana), Mobile (Estados Unidos)
Tiempo de confinamiento: 7 - 3 días
Nombre y código de la embarcación (*): Durbai faith (B10); Bestore Tre (B16)

* para cada uno de las embarcaciones muestreadas, respectivamente.

M5
Características macroscópicas: forma redonda, color marrón con brillo metálico hay un oscurecimiento hacia el centro de la colonia, observándose a tras luz la forma de un ojo de pescado, borde festoneado, elevación convexa.
Tinción de Gram (microscópicas): Bacilos gran negativos
Puerto de Origen: Puerto Everglades (Estados Unidos)
Tiempo de confinamiento: 2 días
Nombre y código de la embarcación: Darya bhakti (B12)

M6
Características macroscópicas: forma ovoide, color marrón oscuro con brillo metálico hay un oscurecimiento hacia el centro de la colonia, observándose a tras luz la forma de un ojo de pescado, borde entero, elevación convexa.
Tinción de Gram (microscópicas): Bacilos gram negativos
Puerto de Origen: Puerto Antwerp (Bélgica), New Orleans (Estados Unidos), Taranto (Italia), Dunkerque (Francia)
Tiempo de confinamiento: 3 – 13 días
Nombre y código de la embarcación: MV Hansa Luebeck (B13); MV Stefania(B17); Ariana (B19); Gaia (B21)

* para cada uno de las embarcaciones muestreadas, respectivamente.

M7
Características macroscópicas: forma irregular, color marrón con brillo metálico hay un oscurecimiento hacia el centro de la colonia, observándose a tras luz la forma de un ojo de pescado, borde entero, elevación convexa.
Tinción de Gram (microscópicas): Bacilos gran negativos
Puerto de Origen (*): New Orleans (Estados Unidos), New Orleans (Estados Unidos)
Tiempo de confinamiento: 6 - 20 días
Nombre y código de la embarcación (*): MV Energy (B15); MV Stefania (B17)

* para cada uno de las embarcaciones muestreadas, respectivamente.

M8
Características macroscópicas: forma triangular, color marrón con brillo metálico hay un oscurecimiento hacia el centro de la colonia, observándose a tras luz la forma de un ojo de pescado, borde entero, elevación convexa.
Tinción de Gram (microscópicas): Bacilos gran negativos
Puerto de Origen: Brunswick Ga. (Estados Unidos)
Tiempo de confinamiento: 4 días
Nombre y código de la embarcación: MV ballangen (B18)

M9
Características macroscópicas: forma ovoide, color marrón con brillo metálico hay un oscurecimiento hacia el centro de la colonia, observándose a tras luz la forma de un ojo de pescado, borde entero, elevación plana.
Tinción de Gram (microscópicas): Bacilos gram negativos
Puerto de Origen: Taranto (Italia), Brayton Point (Estados Unidos)
Tiempo de confinamiento: 13 - 15 días
Nombre y código de la embarcación: Ariana (B19); Gdansk (B23)

* para cada uno de las embarcaciones muestreadas, respectivamente.

10.2.4 Género *Shigella*: Se identificaron 3 Morfotipos, evidenciando una baja diversidad de ellos. Es posible que las condiciones en el tanque de lastre inhiba el desarrollo de esta bacteria pues a 37°C *Shigella* sobrevive cuatro días (Gelderich, 1972). Por otra parte, se puede observar también tres Morfotipos diferentes en una misma muestra, la salinidad y los silicatos obtenidos por Acosta y Navarro (2006) permiten determinar que su origen es agua continental posiblemente de zonas de descarga de aguas servidas donde se desarrollan ampliamente (EPA, 1999) por lo que se considera que la embarcación no realiza recambio de sus aguas.

Algunos morfotipos observados para este género se pueden observar en las siguientes fotografías.

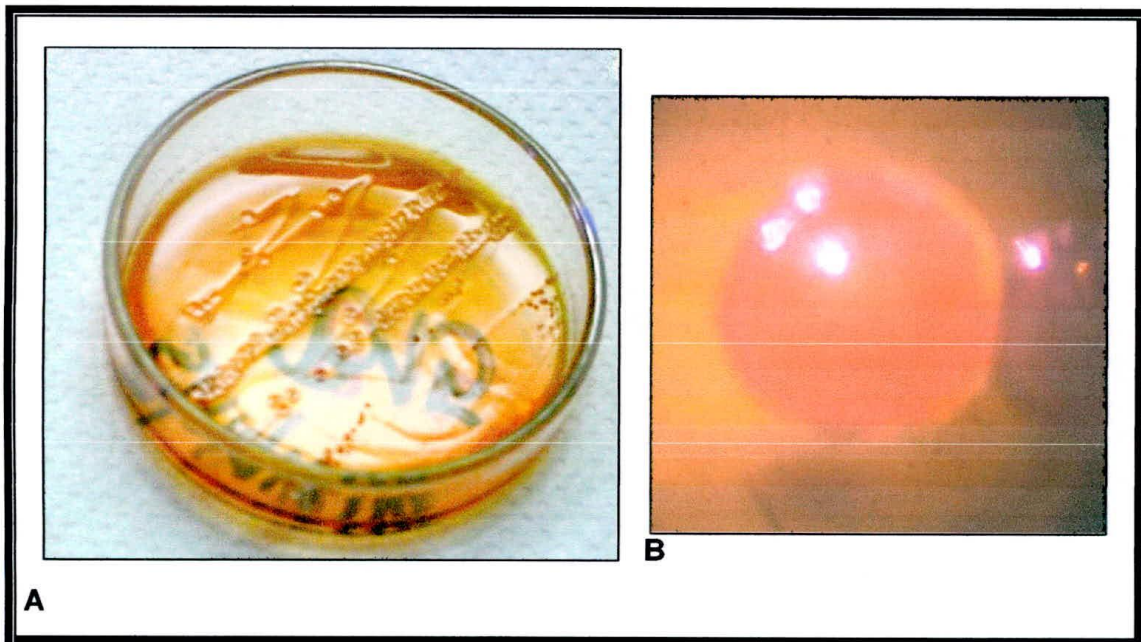


Figura 14. Fotografías de algunos morfotipos presuntivos para el género *Shigella* en agar Mac Conkey presentes en las aguas de lastre de las embarcaciones que arribaron al Puerto de Santa Marta. Referencia: A: Vista general de la caja de Petri con diversos morfotipos de la embarcación B 15 (M1, M2, M3)- B: Detalle del morfotipo M1 de las embarcaciones B3, B4, B5, B6, B7, B8, B9, B10, B11, B12, B13, B14, B15, B16, B17, B19, B20, B21.

M1
Características macroscópicas: forma ovoide, color transparente, borde entero, elevación convexa.
Tinción de Gram (microscópicas): Bacilos gran negativos
Puerto de Origen (*): Gibraltar (Reino Unido), Mobile (Estados Unidos), Newark (Estados Unidos), Hamburgo (Alemania), Maracaibo (Venezuela), Hamburgo (Alemania), Puerto Plata (República Dominicana), Okendo (Perú), Puerto Everglades (Estados Unidos), Puerto Antwerp (Bélgica), Ámsterdam (Países Bajos), New Orleans (Estados Unidos), Mobile (Estados Unidos), New Orleans (Estados Unidos), Taranto (Italia), Puerto Quetzal (Guatemala), Las Mareas (Puerto Rico).
Tiempo de confinamiento: 2 - 20 días.
Nombre y código de la embarcación (*): MV Cape Carmel(B3); Bestore Tre(B4); Genco Carrier(B5); Castillo de San Jorge (B6); IVS Kingfisher(B8); MV Cape Saturn(B9); Durbai faith(B10); Panam Atlantic(B11); Darya Bhakti(B12); MV Hansa Luebeck(B13); Penélope(B14); MV Energy(B15); Bestore Tre(B16); MV Stefania(B17); Ariana(B19); Sheila Ann (B20); Sophie Oldendorff(B22)
*para cada uno de las embarcaciones muestreadas, respectivamente.

M2
Características macroscópicas: forma redonda, color transparente, borde entero, elevación convexa
Tinción de Gram (microscópicas): Bacilos gran negativos
Puerto de Origen: New Orleans (Estados Unidos)
Tiempo de confinamiento: 6 días
Nombre y código de la embarcación: MV Energy(B15)

M3
Características macroscópicas: forma en V, color transparente, borde entero, elevación convexa.
Tinción de Gram (microscópicas): Bacilos gran negativos
Puerto de Origen: New Orleans (Estados Unidos)
Tiempo de confinamiento: 6 días
Nombre y código de la embarcación: MV Energy (B15)

10.3 Identificación bioquímica de algunos Morfotipos bacterianos

Se determinaron bioquímicamente algunos Morfotipos presuntivos de los géneros bacterianos *Vibrio*, *Salmonella*, *Shigella* y *Enterococcus*; a continuación se exponen las especies identificadas y el barco del cual fueron tomadas; como así también el origen del agua de lastre:

Tabla 5. Listado de especies encontradas en las aguas de lastre de los barcos de tráfico internacional arribados al puerto de Santa Marta durante el periodo comprendido entre enero y junio de 2006, (Ver Anexo 4; 5-A, 5-B)

Código/ Origen del agua de lastre	Puerto de origen	Género presuntivo/ Nº de morfotipo	Especie identificada	Confianza
B15/Mar Gran Caribe	New Orleans	<i>Shigella</i> MI	<i>Shigella</i> sp.	99,1%
B15/ Mar Gran Caribe	New Orleans	<i>Salmonella</i> MI	<i>Enterobacter cloacae</i>	99%
B15/ Mar Gran Caribe	New Orleans	<i>Vibrio</i> MI	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	99%
B17/ Mar Gran Caribe	New Orleans	<i>Salmonella</i> MII	<i>Enterobacter cloacae</i>	95%
B17/ Mar Gran Caribe	New Orleans	<i>Vibrio</i> MI	<i>Vibrio cholerae</i>	93,1%
B18/ Mar Gran Caribe	Brunwich Ga.	<i>Vibrio</i> MIII	<i>Vbrio fluvialis</i>	71,1%
B21/ Océano Atlántico Nororiental	Dunkerque	<i>Vibrio</i> MII	<i>Aeromonas hydrophila</i>	97,9%
B22/ Mar Gran Caribe	Las Mareas Puerto Rico	<i>Enterococcus</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	99%

Enterobacter cloacae y *Klebsiella pneumoniae* fueron identificadas con una confianza del 99% pertenecen a la familia Enterobacteriaceae al igual que los géneros *Salmonella* y *Shigella*. Por otra parte, el género *Enterobacter* y *Klebsiella* están presentes en aguas dulces, alcantarillado, plantas, verduras, excremento animal y vegetal (Holt *et al.*, 1994), por lo cual es dudoso que la embarcación B15 haya realizado recambio de agua en el Mar Caribe.

De otro lado, *Klebsiella pneumoniae* también fue identificada en los monitoreos realizados por Rondon *et al.*, (2003) en el Puerto de Cartagena de Indias pero no reporta la especie *Enterobacter cloacae*.



Se determinó la presencia de *Vibrio cholerae* con una confianza del 93,1%, transportada por el buque procedente de New Orleans el cual no realizó recambio en alta mar, el no acatar la norma establecida por la OMI 2004 es perjudicial para la salud de la zona costera que recibe el agua lastrada. Esta misma especie fue reportada por Rondon *et al.*, (2003) en las aguas de lastre de las embarcaciones que arribaron al Puerto de Cartagena.

De otro lado, la identificación bioquímica no determina su toxicidad, para esto es necesario realizar pruebas serológicas, moleculares, PCR que permitan determinar con mayor exactitud y eficiencia la posible introducción de especies del genero *Vibrio* (Mc Carthy *et al.*, 1992), asimismo, (Sack *et al.*, 2004) han demostrado que las cepas de *Vibrio cholerae* aisladas del medioambiente no presentan los genes que codifican la toxina del cólera sin embargo, los estuarios son reservorios de estos genes que pueden ser incorporados y generar especies patógenas virulentas (Barbieri, *et al.*, 1999). Por otra parte, para determinar el lugar de origen de la cepa identificada se necesita un mapeo genético y comparar con especies de otros lugares (Mc Carthy *et al.*, 1992) o en su defecto monitorear el sector del agua que fue lastrada para una mayor precisión.

También se pudo determinar *Vibrio fluvialis* el cual hace parte del grupo de especies de *Vibrio* responsables de enfermedades intestinales como la gastroenteritis. Esta bacteria se asocia con aguas servidas (WHO, 2003). De otra lado, esta especie no ha sido reportada por Rondon *et al.*, (2003) evidenciando que en las aguas de lastre se puede encontrar un sin número de especies bacterianas potencialmente patogénicas.

Aeromonas hydrophila pertenece a la familia *Vibrionaceae*; este género bacteriano esta presente en aguas dulces y aguas negras o de alcantarillado, es reportado



por Rondon *et al.*, (2003) y Páez *et al.*, (2005) en los barcos que arriban a Cartagena.

De otra parte, las características de la muestra de agua de esta embarcación analizadas por Acosta y Navarro (2005) determinan que es de origen continental además, la presencia de esta especie de hábitat dulceacuícola hace dudoso que dicho barco realice el procedimiento de recambio de agua.

Se identificó la especie *Enterococcus faecium* con un 99% de confianza, esta especie hace parte de las denominadas “enterococos intestinales” (Pita, 2002) lo cual evidencia contaminación fecal en las aguas del barco Shophie Oldendorff (B22) que realiza recambio en el Mar Caribe utilizando la metodología de flujo continuo o FT, esto evidencia que no logra desalojar todos los organismos del tanque o en su defecto no realiza tal. Además esta especie está considerada como un indicador de contaminación de medios acuáticos estuarinos con descargas de aguas negras (Volterra *et al.*, 1986; Sinton y Donnison, 1994; Audicana *et al.*, 1995; En: WHO, 2003).

De otra parte, *Enterococcus faecium* y *Shigella* sp. no han sido reportados en las aguas de lastre de barcos que han arribado al Caribe colombiano, teniendo como única referencia los trabajos realizados por Rondon *et al* (2003) y Páez *et al.*, (2005), Por otra parte, *Shigella* sp. fue determinado por Escobar (1988) en las aguas de la Bahía de Santa Marta, lo cual confirma su presencia en este ecosistema.

10.4 RELACIÓN DE ALGUNAS VARIABLES ESPACIO-TEMPORALES Y FISICOQUÍMICAS CON LOS GÉNEROS BACTERIANOS EN ESTUDIO.

10.4.1 VARIABLES ESPACIO-TEMPORALES.

- **Origen del agua:** Durante el muestreo se observó que las embarcaciones mercantes más frecuentes (55%) provenían de Puertos situados en el Golfo de México; Estados Unidos y Región Gran Caribe. Por otro lado, el origen menos habitual (10%) fueron los puertos ubicados sobre el Pacífico (tabla 6).

Tabla 6. Últimos puertos de arribo de los barcos de tráfico internacional monitoreados y que arribaron al Puerto de Santa Marta durante el periodo de estudio.

Código/ Nombre de la Embarcación		Último puerto y país de arribo	Región	Porcentaje de frecuencia de arribo según su origen
B4	Bestore Tre	Mobile, Estados Unidos	Mar Gran Caribe	55%
B5	Genco Carrier	Newark, Estados Unidos	Mar Gran Caribe	
B8	IVS Kingfisher	Maracaibo, Venezuela	Mar Gran Caribe	
B10	Durbai faith	Puerto Plata, Rep. Dominicana	Mar Gran Caribe	
B12	Darya bhakti	Port Everglades Estados Unidos	Mar Gran Caribe	
B15	M.V. Energy	New Orleans, Estados Unidos	Mar Gran Caribe	
B16	Bestore Tre	Mobile, Estados Unidos	Mar Gran Caribe	
B17	MV Stefania	New Orleans, Estados Unidos	Mar Gran Caribe	
B22	Sophie Oldendorff	Las Mareas, Puerto Rico	Mar Gran Caribe	
B23	Gdansk	Brayton Point, Estados Unidos	Mar Gran Caribe	
B18	MV Ballangen	Brunswick Ga, Estados Unidos	Mar Gran Caribe	
B3	MV Cape Carmel	Gibraltar, Reino Unido	Mediterráneo	20%
B6	Castillo de San Jorge	Hamburgo, Alemania	Mediterráneo	
B19	Ariana	Taranto, Italia	Mediterráneo	
B21	Gaia	Dunkerque, Francia	Mediterráneo	
B13	MV Hansa Luebeck	Puerto Antwerp, Bélgica	Mar del Norte	15%
B14	Penelope	Ámsterdam, Países Bajos	Mar del Norte	
B9	MV Cape Saturn	Hamburgo, Alemania	Mar del Norte	
B20	Sheila Ann	Puerto Quetzal, Guatemala	Pacífico	10%
B11	Panam Atlantic	Oquendo, Perú	Pacífico	

▪ **Similaridad entre las embarcaciones muestreadas y los géneros en estudio.**

En la figura 15, se observa la Similaridad de Jaccard entre las embarcaciones que arribaron al Puerto de Santa Marta y los géneros en estudio durante el periodo de monitoreo. El 85,52% de las aguas de lastre de las embarcaciones presentaron en común los géneros *Enterococcus* y *Vibrio*; el 78,31% los géneros *Enterococcus*, *Vibrio* y *Salmonella* respectivamente y por ultimo, el 71,63% de similitud para la presencia de los géneros *Enterococcus*, *Vibrio*, *Salmonella* y *Shigella*.

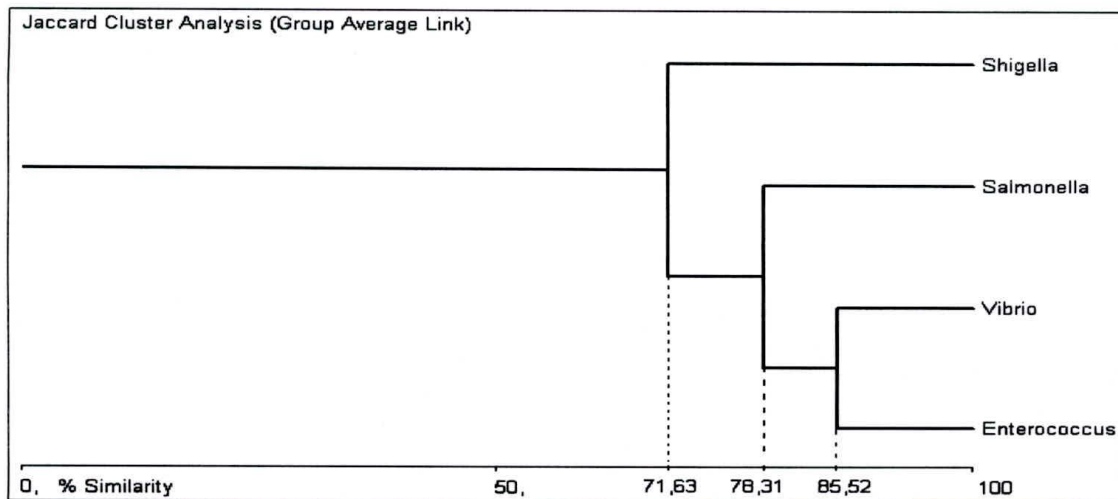


Figura 15. Similaridad de Jaccard entre los buques muestreados según la presencia de los géneros bacterianos en estudio.

El 85,52% de las embarcaciones presentaban al menos dos géneros en común lo cual indica que el origen de estas aguas son estuarios o donde se vierten aguas servidas; pues *Enterococcus* es propio de estos hábitat (EPA,1986). Por otra parte, permite considerar que la mayoría de las embarcaciones no emplean un efectivo manejo de las aguas de lastre.

Tiempo de confinamiento. Se observó que las embarcaciones muestreadas presentaron un tiempo de confinamiento entre 2 y 20 días, siendo el más frecuente, los 4 días (tabla 7). Por otro lado, las embarcaciones que provienen



del viejo continente presentan los tiempos más largos de viaje y los más cortos son los provenientes de la región Gran Caribe.

El tiempo más frecuente de viaje observado en las embarcaciones mercantes es de 6 días las cuales en su mayoría proceden de puertos ubicados en Estados Unidos, región Gran Caribe

Tabla 7. Días de confinamiento de las aguas de lastre en los tanques de lastre y tiempo de viaje de los barcos de tráfico internacional arribados al puerto de Santa Marta durante el periodo comprendido entre enero y junio de 2006. Referencia: Días conf. (Días de confinamiento del agua de lastre)

Código y Nombre del Buque	Fecha de llegada puerto	Fecha lastrado	Fecha recambio	Fecha deslastrado	Días conf.	Tiempo del Viaje en días
B3 MV Cape Carmel	26/01/2006	06/01/2006	19/01/2006	18/01/2006	7	20
B4 Bestore Tre	27/01/2006	21/01/2006	24/01/2006	27/01/2006	3	6
B5 Genco Carrier	25/01/2006	17/01/2006	21/01/2006	17/01/2006	4	8
B6 Castillo de San Jorge	31/01/2006	12/01/2006	25/01/2006	04/02/2006	6	19
B8 IVS Kingfisher	29/01/2006	24/01/2006	—	29/01/2006	5	5
B9 MV Cape Saturn	08/02/2006	29/01/2006	—	08/02/2006	10	10
B10 Durbai faith	08/02/2006	02/02/2006	—	09/02/2006	7	6
B11 Panam Atlantic	09/02/2006	26/01/2006	—	09/02/2006	14	14
B12 Darya bhakti	08/02/2006	02/02/2006	07/02/2006	08/02/2006	1	6
B13 MV Hansa Luebeck	14/02/2006	02/02/2006	10/02/2006	14/02/2006	4	12
B14 Penelope	18/04/2006	02/04/2006	08/04/2006	19/04/2006	11	16
B15 M.V. Energy	18/04/2006	12/04/2006	16/04/2006	18/04/2006	2	6
B16 Bestore Tre	20/04/2006	11/04/2006	17/04/2006	20/04/2006	3	9
B17 MV Stefania	17/05/2006	27/04/2006	-	17/05/2006	20	20
B18 MV Ballangen	24/05/2006	18/05/2006	21/05/2006	25/05/2006	4	6
B19 Ariana	24/05/2006	05/05/2006	15/05/2006	28/05/2006	13	19
B20 Sheila Ann	01/06/2006	26/05/2006	-	01/06/2006	6	6
B21 Gaia	02/06/2006	15/05/2006	24/05/2006	02/06/2006	9	18
B22 Sophie Oldendorff	09/06/2006	07/06/2006	09/06/2006	09/06/2006	0	2
B23 Gdansk	09/06/2006	02/06/2006	-	11/06/2006	9	7

▪ **Tiempo de confinamiento en los tanques de agua de lastre versus presencia de los géneros en estudio.** En la tabla 8 se observa que la razón de verosimilitud con significancia exacta es no significativa tal vez por la gran variabilidad de los datos y la dimensión de los mismos, por lo cual no se puede corroborar estadísticamente esta relación.

Tabla 8. Razón de verosimilitud con significancia exacta, entre la presencia de los géneros en estudio versus el tiempo de confinamiento y localización geográfica del agua de lastre en los tanques de los barcos arribados al Puerto de Santa Marta durante el periodo de estudio. Referencia: $x < 0,05$ (significancia) $n=20$

Género en estudio	Tiempo de confinamiento	Origen del agua de lastre
<i>Vibrio</i>	0,116	0,410
<i>Shigella</i>	0,509	0,305
<i>Salmonella</i>	0,859	0,005

El reporte realizado por Joachimsthal (2003) manifiesta que el tiempo de confinamiento es uno de los factores que pueden repercutir sobre la presencia de bacterias anaerobias facultativas en los tanques de agua de lastre en una embarcación anclada en el puerto de Singapur, puesto que este tenía 90 días de confinamiento y sus muestras microbiológicas arrojaban un 50% más de abundancia en comparación con las muestras de mar. Teniendo en cuenta que los tiempos más frecuentes fueron de 4 días los cuales son menores a 90 días, si puede haber una relación, la cual no se pudo corroborar estadísticamente.

De otro lado, es posible que la presencia de las bacterias en estudio sea la falta de limpieza de los tanques de lastre; es decir, si bien se pueden realizar recambios de agua en medio del océano, también es necesario una limpieza de las paredes de los tanques de lastre o en su base; pues existe la posibilidad de biofilm adherido en las paredes de los tanques (Potera, 1999) los cuales pueden contener este tipo de bacterias tal como lo reportan; Drake *et al.* (2005).

Por otra parte, la OMI considera que cuanto mayor es el tiempo de confinamiento menor es el riesgo de contaminación por patógenos proponiendo que el tiempo prudencial es de 90 días; en estas muestras el máximo tiempo fue 20 días y el mínimo 2, generando un potencial riesgo sobre la salud del ecosistema.

- **Localización geográfica del agua de lastre versus presencia de los géneros en estudio.** En la tabla 8 se evidencia una relación significativa ($X=0,005$) entre la presencia del género *Salmonella* en el agua de lastre y la localización geográfica del agua donde se lastró o en donde se realizó el recambio del agua de lastre

Estudios rigurosos determinan que la procedencia de este género se asocia a zonas estuarinas o donde existe una fuente de contaminación cercana, como el vertimiento de aguas servidas (Escobar 1988, Kvenberg, 1991), pues es un indicador de contaminación fecal utilizado en la industria pesquera, específicamente en la acuicultura actividad que se desarrolla en zonas estuarinas (Mossel, 1982). Por lo cual es factible que el recambio de agua se halla realizado en estas zonas o por el contrario no se halla realizado.

Por otra parte, no se verifican preferencias geográficas para los géneros *Shigella* y *Vibrio* en las aguas de lastre de las embarcaciones monitoreadas, evidenciando que este factor no determina la presencia de estas bacterias. Esta evidencia estadística coincide por lo postulado por ecólogos microbianos quienes asegura que la localización geográfica de los microorganismos es de amplia distribución, su tamaño facilitan una amplia dispersión (Dobbs y Rogerson, 2005); por esto la introducción de estos microorganismos foráneos al medio pueden ocasionar una serie de perturbaciones debido a los cambios en las abundancias sobre el ecosistema receptor.

En cuanto a los niveles de *Enterococcus* se evidencia una relación lineal no significativa con el tiempo de confinamiento (figura 16) posiblemente porque existe una alta variabilidad de los datos por lo cual no existe una correlación matemática.

Sin embargo, estudios realizados sobre crecimiento bacteriano determinan que cuando existe sobrepoblación comienza un decrecimiento debido a la falta de nutrientes y alta concentración de tóxicos producto de su metabolismo (Pelczar *et al*, 1997) para poder determinar esta condición es necesario realizar mayores monitoreos.

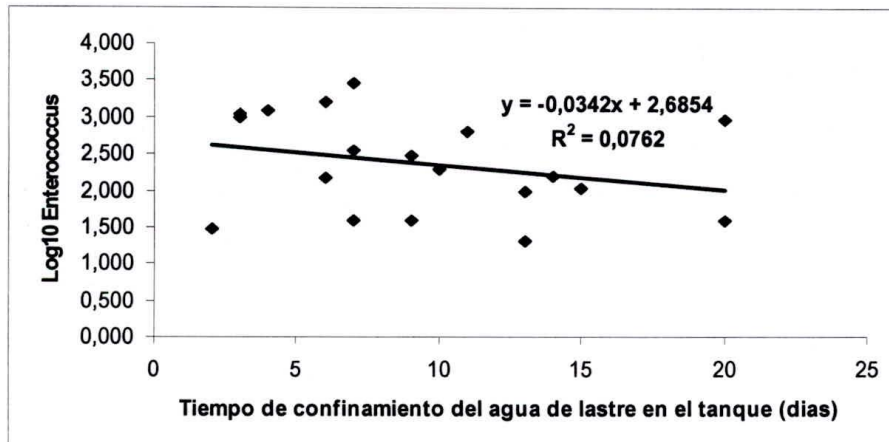


Figura 16. Relación entre el tiempo del agua de lastre y los niveles de *Enterococcus*

10.4.2 variables fisicoquímicas. Las mediciones de las variables fisicoquímicas del agua de lastre, fueron efectuadas durante el mismo tiempo de muestreo por Acosta y Navarro (2006), cuyos datos se describen a continuación en la tabla 9



Tabla 9. Variables fisicoquímicas de las aguas de lastre de las embarcaciones de tráfico internacional que arriban al puerto de Santa Marta monitoreadas durante el periodo de Enero a junio de 2006.

Cod.	Temp. (°C)	Salinidad (UPS)	pH	Amonio		Nitrito		Nitrato		Ortofosfatos		Silicatos	
				ug-at/l	mg/l	ug-at/l	mg/l	ug-at/l	mg/l	ug-at/l	mg/l	ug-at/l	mg/l
B3	31	29	8	9,39	0,17	0,05	<0,0005	0,35	0,02	0,15	0,01	0,67	0,06
B4	20	19	8	0,86	0,02	0,16	0,01	<0,05	<0,003	0,83	0,08	4,02	0,37
B5	27	30	8	5,86	0,11	0,12	0,01	10,67	0,66	0,68	0,07	6,54	0,6
B6	27	28	8	4,39	0,08	<0,01	<0,0005	2,09	0,13	0,29	0,03	1,57	0,14
B7	30	27	8	4,39	0,08	0,08	<0,0005	3,88	0,24	0,15	0,01	30,05	2,77
B8	29	30	8	3,8	0,07	0,18	0,01	0,39	0,02	0,87	0,08	1,11	0,1
B9	-	29	8	11,74	0,21	0,23	0,01	<0,05	<0,003	5,08	0,49	1,45	0,13
B10	-	29	8	0,56	0,01	0,46	0,02	<0,05	<0,003	0,78	0,07	0,45	0,04
B11	29	1	8	2,33	0,04	0,23	0,01	18,03	1,12	1,31	0,13	13,03	1,2
B12	28	29	8	8,51	0,15	0,07	<0,0005	1,48	0,09	0	0	7,57	0,7
B13	27	28	8	2,92	0,05	0,03	<0,0005	3,54	0,22	0,44	0,04	8,71	0,8
B14	-	28	7	<0,1	<0,002	0,02	<0,0005	5,3	0,33	0	0	2,75	0,25
B15	-	1	8	22,04	0,4	0,26	0,01	61,51	3,81	0,05	0,01	58,81	5,41
B16	25	21	8	<0,1	<0,002	0,07	<0,0005	2,45	0,15	0,05	0,01	12,78	1,18
B17	-	0	9	<0,1	<0,002	<0,01	<0,0005	29,59	1,83	0,15	0,01	60,45	5,57
B18	-	29	8	4,09	0,07	0,05	<0,0005	1,68	0,1	0	0	2,69	0,25
B19	29	31	8	4,68	0,08	0,08	<0,0005	1,89	0,12	0,1	0,01	3,71	0,34
B20	30	29	8	1,74	0,03	0,12	0,01	1,3	0,08	0	0	2,04	0,19
B21	-	30	8	<0,1	<0,002	<0,01	<0,0005	0,89	0,06	0	0	4,09	0,38
B22	-	31	8	6,15	0,11	<0,01	<0,0005	0,31	0,02	0	0	3,84	0,35
B23	-	24	8	2,33	0,04	<0,01	<0,0005	0,95	0,06	0,1	0,01	2,97	0,27
Mediana	28	29	8	4,388	0,079	0,099	0,005	1,99	0,123	0,15	0,01	3,839	0,35
Promedio	28	24	8	5,634	0,101	0,138	0,006	8,128	0,504	0,527	0,05	10,919	1,01
D.S.	3	10	0,4	5,19	0,1	0,1	0,1	15,31	0,94	1,1	0,1	17,48	1,6
C.V.	0,1	0,34	23	1,086	1,014	1,377	0,063	0,531	0,536	0,479	0,51	0,625	0,63
Máximo	31	31	9	22,035	0,397	0,461	0,021	61,513	3,814	5,077	0,49	60,453	5,57
Mínimo	20	0	7	0,565	0,01	0,016	0,001	0,313	0,019	0	0	0,453	0,04

Según Acosta y Navarro (2006) las variables fisicoquímicas de las aguas de lastre, en general, fueron características de ecosistemas acuáticos tropicales y similares a las reportadas para el área de Santa Marta. Sin embargo, nutrientes como silicatos y nitratos presentaron valores que excedieron a los reportados hasta la

fecha para el área de estudio. En cuanto a la variable salinidad, el 70% de las aguas de buques muestreados corresponden a aguas estuarinas, el 24% marinas y el 6% dulces. Lo anterior, reitera la utilidad que tiene dicha variable para definir el tipo de agua lastrada.

- **Relación de las variables fisicoquímicas con los géneros en estudio:** En los monitoreos se observó una alta variabilidad de datos microbiológicos siendo esto una razón para que se presentara una correlación matemática no significativa entre las dos variables (Figura 17, 18, 19, 20 y 21). Por otra parte, se consideran a las aguas de lastre monitoreadas oligotróficas (Acosta y Navarro, 2006) esta condición contradice las características de las aguas donde estos microorganismos se desarrollan (EPA, 1986) por consiguiente es poco probable que los nutrientes disueltos sean una fuente de energía para *Enterococcus*. Según estudios realizados por Drake *et al.* (2005) Una posible causa a considerar es el biofilm en las paredes y fondo de los tanques de lastre.

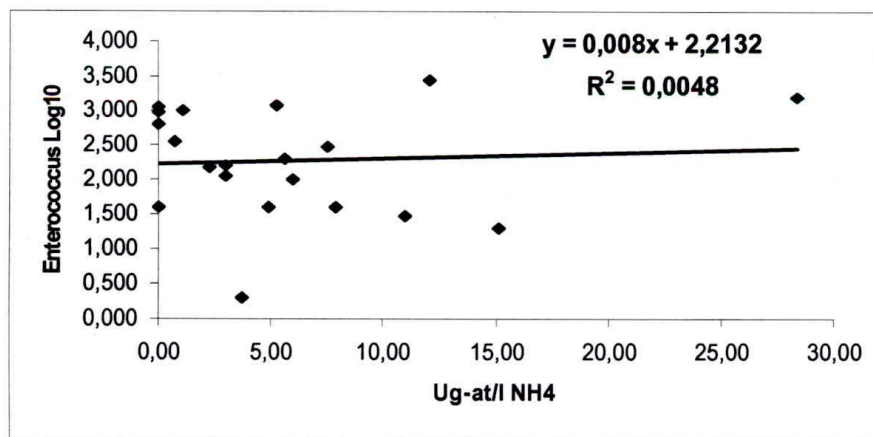


Figura 17. Relación entre $\mu\text{g-at NH}_4/\text{l}$ presente en el agua de lastre en los tanques de los barcos de tráfico internacional arribados y monitoreados durante el periodo de estudio y el género *Enterococcus*

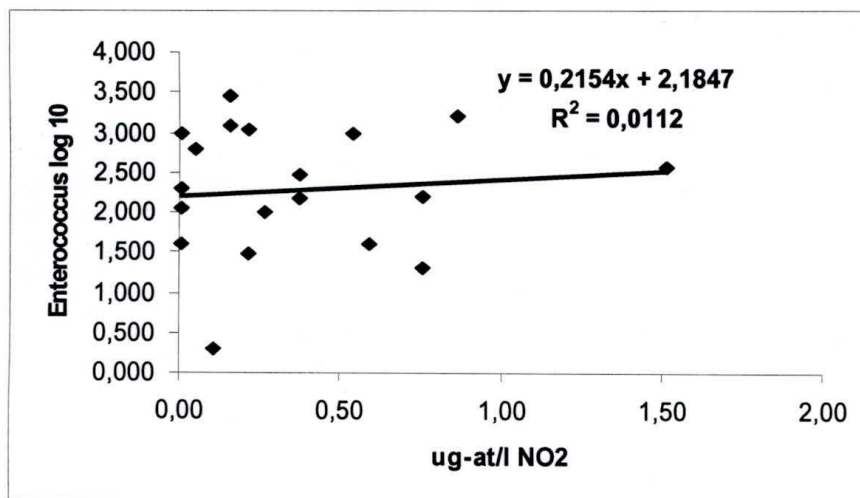


Figura 18. Relación entre $\mu\text{g-at NO}_2/\text{l}$ presente en el agua de lastre en los tanques de los barcos de tráfico internacional arribados y monitoreados durante el periodo de estudio y el género *Enterococcus*

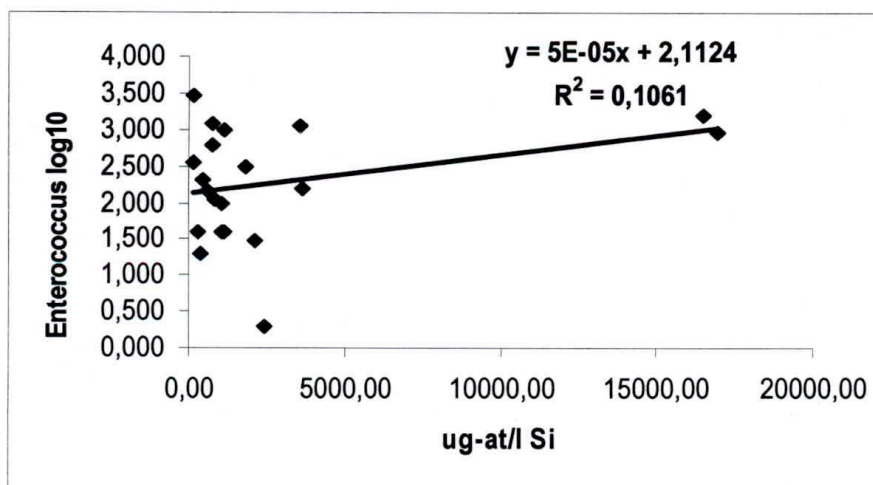


Figura 19. Relación entre $\mu\text{g-at Si/l}$ presente en el agua de lastre en los tanques de los barcos de tráfico internacional arribados y monitoreados durante el periodo de estudio y el género *Enterococcus*.



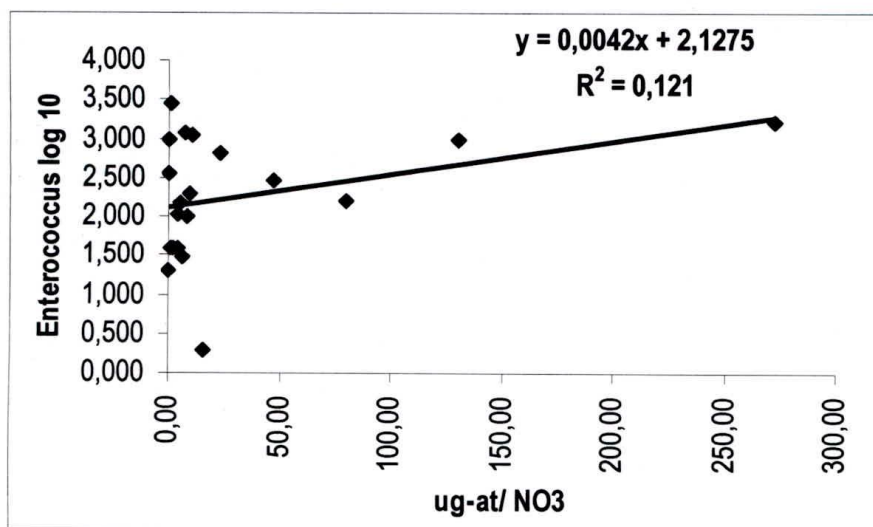


Figura 20. Relación entre $\mu\text{g-at NO}_3/\text{l}$ presente en el agua de lastre en los tanques de los barcos de tráfico internacional arribados y monitoreados durante el periodo de estudio y el género *Enterococcus*.

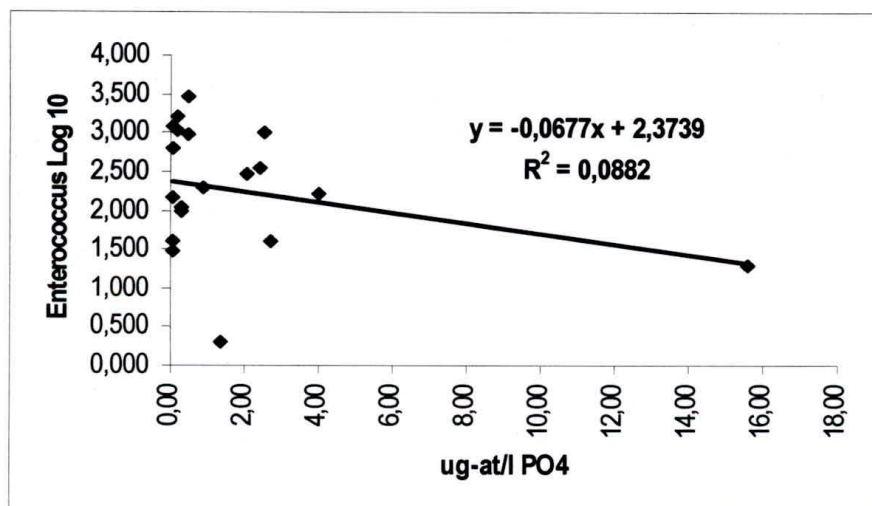


Figura 21. Relación entre $\mu\text{g-at PO}_4/\text{l}$ presente en el agua de lastre en los tanques de los barcos de tráfico internacional arribados y monitoreados durante el periodo de estudio y el género *Enterococcus*.

Por otra parte; la salinidad, pH y temperatura presentaron una correlación no significativa (figuras, 22, 23 y 24), los registros de pH y temperatura mantuvieron un comportamiento homogéneo (Acosta y Navarro, 2006). Según el estudio realizado por Godfree *et al*, (1997) considera que *enterococcus* es resistente a las

variaciones de estos factores por lo cual las condiciones fisicoquímicas registradas no representan una barrera para su proliferación en las aguas de lastre de los barcos monitoreados.

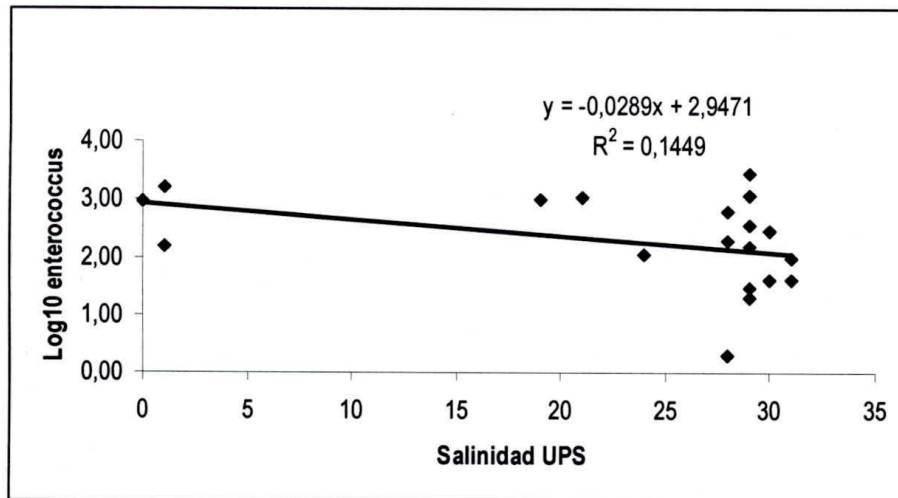


Figura 22. Relación entre la salinidad (UPS) presente en el agua de lastre en los tanques de los barcos de tráfico internacional arribados y monitoreados durante el periodo de estudio y el género *Enterococcus*.

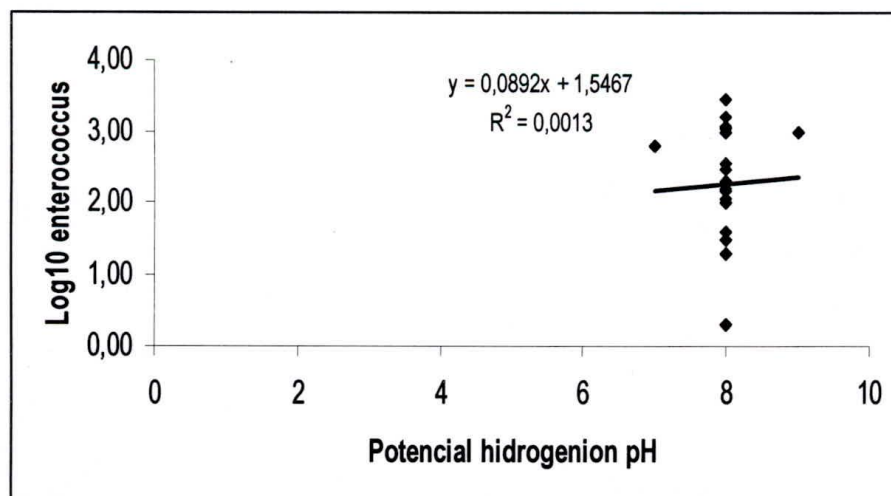


Figura 23. Relación entre el potencial hidrogenion (pH) presente en el agua de lastre en los tanques de los barcos de tráfico internacional arribados y monitoreados durante el periodo de estudio y el género *Enterococcus*.

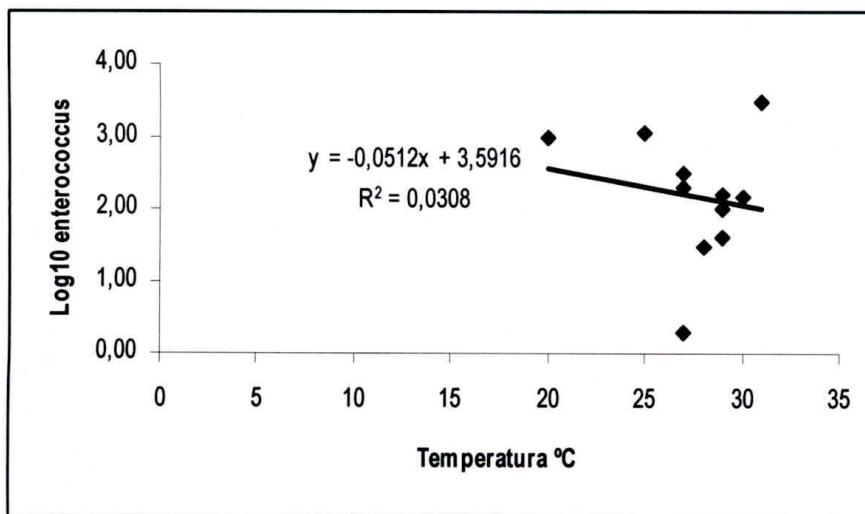


Figura 24. Relación entre la temperatura en el agua de lastre en los tanques de los barcos de tráfico internacional arribados y monitoreados durante el periodo de estudio y el género *Enterococcus*

De otro lado, la presencia o ausencia de los géneros *Vibrio*, *Salmonella* y *Shigella* presentan una relación estadística no significativa entre los factores fisicoquímicos, tal como se observa en la tabla 10. La posible relación no se evidencia posiblemente porque es pequeño el número de muestras ($n=20$), pues estos microorganismos obtienen energía de los nutrientes disueltos aguas costeras, como por ejemplo el nitrato (Pelczar *et al.*, 1997).

Por otra parte, no se pudo comparar estadísticamente el comportamiento del género *Shigella* en relación a la temperatura del agua de lastre porque estuvo presente en todos los muestreos donde se midió este factor, haciendo imposible su análisis matemático. Teniendo en cuenta lo descrito por Gelderich, (1972) las temperatura obtenidas están dentro del rango de crecimiento para este genero.

Tabla 10. Razón de verosimilitud con significancia exacta entre la presencia de los géneros en estudio y las variables fisicoquímicos. Referencia: $x < 0,05$ (significancia) $n=20$

Géneros en estudio	Razón de verosimilitud con significancia exacta							
	Temperatura	Salinidad	pH	Amonio	Nitrito	Nitrato	Ortofosfato	Silicato
<i>Vibrio</i>	0,75	0,726	0,284	0,818	0,055	0,597	0,833	1
<i>Salmonella</i>	0,836	0,675	0,521	1	0,475	0,337	0,971	1
<i>Shigella</i>	(*)	0,621	0,368	0,989	0,895	0,597	0,937	1

* No hay cálculo estadístico para la variable *shigella* porque se presentó como constante.

11. CONCLUSIONES

De los 21 barcos de tráfico internacional arribados al Puerto de Santa Marta se pudo constatar la presencia de *Enterococcus* con un 29%, *Vibrio* y *Shigella* con un 24% y *Salmonella* con un 23%. El 85,52% de los buques registraron presencia de al menos dos géneros (*Enterococcus* y *Vibrio*) 78,31% tres (*Enterococcus*, *vibrio*, *Salmonella*) y 71,63% los cuatro propuestos en este estudio. El género más diverso fue *Vibrio* (20 Morfotipos) seguido de *Salmonella* (9) y *Shigella* (3).

Se determinaron bioquímicamente siete especies bacterianas. *Vibrio cholerae*, *Vibrio fluviales*, *Aeromonas hydrophila*; *Klebsiella pneumoniae*; *Shigella* sp. *Enterococcus faecium*, *Enterobacter cloacae*.

En el presente estudio las variables espacio-temporales y fisicoquímicas no fueron determinantes para la presencia de los géneros. Esto corrobora la amplia distribución de estos géneros en los cuerpos acuáticos, tanto dulce como marina o estuarinos.

Los niveles de *Enterococcus* y la presencia de los otros géneros entéricos, pueden catalogarse como indicadores del origen del agua, desde el punto de vista "costero u oceánico", así como verificar si efectivamente se están efectuando los procesos de recambio en altamar.



12. RECOMENDACIONES

Teniendo en cuenta las características patogénicas de estas bacterias y la ausencia de una legislación para el vertido de las aguas de lastre en Colombia es imperante la regulación para proteger los ecosistemas costeros de la nación.

Teniendo en cuenta las limitaciones logísticas que no permiten obtener un óptimo tiempo de monitoreo, es necesario llegar a un acuerdo con Capitanía de Puerto para poder aumentar el número de muestreos de barcos arribados a la Zona Portuaria de Santa Marta y entre los tanques de lastre de cada una de las embarcaciones para tener una significativa referencia de la presencia de estas bacterias en el agua de lastre. Asimismo, monitorear la zona de los muelles y boyas de fondeo de cada puerto.

Realizar próximos estudios que permitan conocer e identificar los Morfotipos de cada género en estudio y sus correspondientes pruebas serológicas, moleculares y PCR para confirmar la patogenicidad de la especie encontrada

Hacer monitoreos estacionales (época de lluvia y de sequía) para poder observar la posible dinámica de las aguas de lastre; es decir, como se relaciona la persistencia de las bacterias patógenas deslastradas en el medio marino según la estacionalidad climática.

Realizar un estudio microbiológico sobre la biota de la Zona portuaria de Santa Marta (peces y crustáceos) con el fin de determinar enfermedades relacionadas con la presencia de bacterias patógenas producto del deslastre de las embarcaciones.

Realizar un estudio de la presencia de biofilm en las paredes de los tanques de agua de lastre con el fin de verificar si este factor incide sobre la presencia de bacterias anaerobias facultativas

Incluir en la legislación colombiana de calidad de agua al género *Enterococcus* como un indicador de materia fecal en aguas marinas, con el fin de actualizarla y que este acorde a lo que recomienda la Organización Mundial de la Salud y la EPA.

13. BIBLIOGRAFIA

APHA. Standard Methods for the examination of water and wastewater. ed 20 American public health Association, American Waste Works Association, Water Environment Federation. Washington, D.C. USA. 1998, p.1100.

ACOSTA, Y. NAVARRO C. Evaluación de la composición zooplanctónica y variables fisicoquímicas en el agua de lastre de buques internacionales que arriban al puerto de santa marta (caribe colombiano). Santa Marta 2006 126p. Trabajo de grado. (Biologo). Universidad del Magdalena. Facultad de Ciencias Básicas.

AMAYA, J. Informe de Argentina sobre agua de lastre Programa Global de Gestión de las Aguas de Lastre (Globallast) Informe de Situación del País. Anexo XI Secretaria de Ambiente y desarrollo de la Nación. Prefectura Naval Argentina 1998, p 8.

AUDICANA A, PERALES I, BORREGO JJ. 1995 Modification of kanamycin–esculin–azide agar to improve selectivity in the enumeration of fecal streptococci from water samples. Applied and Environmental Microbiology, 61: 4178–4183. Citado por: Guidelines for safe Recreational Water Environments. World Health Organization Geneva. Volume 1 Coastal And Fresh Waters. 2003 chapter 4 Faecal Pollution and Water Quality p, 51-101.

BALAKRISHN, N. y HORMAZABAL, J. La pandemia del *Vibrio parahaemolyticus* EN: Revista Chilena de Infectología. Vol 22, No.2 (junio de 2005); p.125-130.

BARBIERI E.; FALZANO, L.; FIORENTINI, C.; PIANETTI, A.; BAFFONE, W.; ALESSIA, F.; MATARRESE, P.; CASIERE, A.; KATOULI, M.; KÜHN, I.; MÖLLBY, R.; BRUSCOLINI, F.; DONELLI, G. Occurrence, Diversity, and Pathogenicity of Halophilic *Vibrio* spp. and Non-O1 *Vibrio cholerae* from Estuarine Waters along the Italian Adriatic Coast. Applied and Environ Microb 65 6 (1999) p.2748-2753.

CAMPBELL, R. Ecología Microbiana. México: Noriega. 2001, p.268.

Capitanía de Puerto de Santa Marta. C.P.S.M. [On line] Comunicación e-mail: cp04@dimar.mil.co Información Puerto Prodeco S.A., C. I. Cienaga S.A. y Drummond Ltd. 2006, p.2.

CARLTON J. 1995. Shipping Study. The Role of Shipping in the Introduction of non-indigenous aquatic organisms to the coastal water of the United States (Other than Great Lakes) and an analysis of control options. The National Sea Grant

Collage Program/Connecticut Sea Grant Project RIES-6 Groton, Connecticut. Report Number CG-D-11-95. Citado por: CASALE, Gloria. Ballast Water. A Public health Issue? 8 ed. London: Global Ballast Water, 2002 p.4-5.

CASALE, G. Ballast water a public health issue?. 8 ed. London: Global Ballast Water, (2002); p4-5.

CERVINO, J. HAYES, R. POLSON, S., POLSON, S. GOREAU, T. MARTINEZ, R. SMITH, G. Relationship of *Vibrio* Species Infection and Elevated Temperatures to Yellow Blotch/Band Disease in Caribbean Corals EN: Applied and Environmental Microbiology, Vol. 70, No. 11, (2004); p. 6855-6864.

CROQUER, A. PAULS, SM. ZUBILLAGA, AI. Coral disease outbreak in a coral reef at Los Roques National Park. EN: Rev. Biol. Trop. 51 (Supl. 6): 39-45. Citado por: GARCIA, Adriana y CROQUER, Aldo. Algunas características funcionales de las comunidades bacterianas del mucus asociado a tejidos sanos y con síndrome de banda amarilla en *Montastraea annularis*. *INCI*, vol.29, No.1 (enero 2004); p.39-45.

DE PAOLA. 1992 Isolation of Latin American epidemic strain of *Vibrio cholerae* O1 from Us Gulf Coast. *Lancet* 339:624. Citado por: CASALE, Gloria. Ballast Water. A Public health Issue? 8 ed. London: Global Ballast Water, 2002; p.4-5. Citado por: CASALE, Gloria. Ballast Water. A Public health Issue? 8 ed. London: Global Ballast Water, (2002); p.4-5.

DELGADO, L. CARRERO, A. HERNANDEZ, G. BLANCO, N. PEREZ-SCHAEEL, I. Origen bacteriano de la enfermedad diarreica aguda en Mérida, Venezuela EN: Revista Cubana Medicina Tropical, vol.51, No.1 (enero-abril 1999); p.14-19.

DIRECCIÓN DE IMPUESTOS Y ADUANAS NACIONALES. DIAN. [On line] [Bogota, Colombia] Copyright 2005 [.fecha de consulta 2-10-2006] Disponible en: <http://www.dian.gov.co/content/servicios/boletin-omex/2006/boletin154/jun06/expo/ii-17.pdf>.

DIAZ C. Guía Universidad Nacional de Colombia de laboratorio para ingenieros; Facultad de Ingeniería. Santa Fe de Bogota, 1988; 20p.

DIRECCIÓN MARÍTIMA GENERAL DIMAR. Estadísticas Trimestrales EN: Portafolio Marítimo Colombiano. División de Transporte Marítimo. Santa Fe de Bogota Boletín N° 3. 2002, p 69.

_____. DIMAR. Capitanías [On Line] [Bogotá: Colombia] Copyright 2005
[.fecha de consulta 4-04-2006] Disponible en
URL:<http://www.dimar.mil.co/vbecontent/newsdetail.asp?id=447&idcompany=1>.

DOBBS, F. DIALLO, A. DOBLIN, M. DRAKE, L. GRACZYK, T. JIANG, X. JOHENGEN, T. KAMPSCHMIDT, L. REID, D. RUBLEE, P. RUIZM, G. Pathogens in Ships' Ballast Water and Sediment Residuals. [On Line] Abstract of the Third International Conference on Marine Bioinvasions. [La Jolla, California] [March 16-19, 2003, p. 29.] [Fecha de consulta 24 -08 2005] disponible en: <http://www.sgnis.org/publicat/dobbdial.htm>.

DOBBS, F. ROGERSON A. Riding Ship' Ballast water of Microorganism is it even possible to remove- and if so, should we tray? Environmental Science & Technology (June 15) 2005, p 259A-264A.

DOBLIN, M., DOBBS, F., DRAKE, L., BEDNARSKI, M., COYNE, K. j., HEINEMANN, S., KAMPSCHMIDT, L., MULLADY, T., MURPHY, K., RUIZ, G., Effects of Open-Ocean Exchange on Microbial Communities in Ships' Ballast Tanks [On Line] Abstract of the Third International Conference on Marine Bioinvasions. [La Jolla, California] [Marzo 16] [-19, 2003, p. 29.] [Fecha de consulta 24- 08- 2005]. Disponible en: <http://sgnis.org/publicat/dobldobb.htm>.

DRAKE, L., MEYER, A., FORSBERG, R., BAIER, R., DOBLIN, M. HEINEMANN, A., P., KOCH, M, RUBLEE, P. DOBBS, F. Potential invasion of microorganisms and pathogens via 'interior hull fouling': biofilms inside ballast water tanks. Biological Invasions N° 7, 2005 p, 969-982.

EL SHARKAWI F, HASSAN MNER (1982) The relation between the state of pollution in Alexandria swimming beaches and the occurrence of typhoid among bathers. Bulletin of the High Institute of Public Health of Alexandria, 12: 337-351. Citado por: Guidelines for safe Recreational Water Environments. World Health Organization Geneva. Volume 1 Coastal And Fresh Waters. 2003 chapter 4 Faecal Pollution and Water Quality p, 51-101.

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY EPA. Ambient Water Quality Criteria for Bacteria 1986 [On Line] [Washington, United States] [EPA 440-5-84002] EN: Subsecretaria de Recursos Hídricos de la Nación. Ministerio de Recursos Naturales de la Republica Argentina [En línea] Niveles Guía Nacionales de Calidad Agua Ambiente correspondientes a *Escherichia coli* y *Enterococos*. [Fecha de consulta 30-06-06.] Disponible en: <http://hidricos.obraspublicas.gov.ar/documentos/calidad/escherichia.pdf>.





_____. Folleto Informativo de Tecnología de aguas residuales. Desinfección con Cloro. 1999 [On Line]. [Washington, United States] [EPA 440-5-84002] fecha de consulta Junio 30 de 2006. Disponible en: <http://www.epa.gov/owm/mtb/cs-99-062.pdf>.

ESCOBAR, A. Condición Bacteriológica de las Ostras del Manglar (*Crassostrea rhizophorae* Guilding) en la Ciénaga Grande de Santa Marta, Caribe colombiano. EN: Anales Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras. N°18, 1988. 137-151p.

_____, (b) Estudio de Algunos aspectos Ecológicos y de la Contaminación Bacteriana en la Bahía de Santa Marta, Caribe colombiano. EN: Anales Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras. N° 18, 1988 39-57p.

ESCOBAR, J. Revista actualiza a 1997 del estudio de contaminación marina en la región del pacifico sudeste.- CEPIS CPPS. PNUMA, Bogota, Colombia 187p. citado por: AGUILAR, L. Caracterización Fenotípica y genotípica de estirpes de *Salmonella choleraesuis* aisladas de ambientes marinos, Lima Perú, 2003,. Trabajo de Grado (Biólogo con mención en microbiología y parasitología). Universidad Nacional Mayor De San Marcos. Facultad de ciencias biológicas. Departamento Académico de Microbiología y Parasitología.

FERS C. Los Problemas de las aguas contaminadas. eco21 [On Line]. Copyright 2005. [Fecha de consulta 29 -07- 2006]. Disponible en: URL>:
[ttp://eco21.com.ar/modules.php?op=modload&name=News&file=article&sid=424](http://eco21.com.ar/modules.php?op=modload&name=News&file=article&sid=424).

GAMÓN CONSUEGRA, R. C. Norma mexicana para la conservación de playas, (NMX-AA-120-SCFI). Conservación del Territorio Insular Mexicano (ISLA), Comité Técnico de Normalización Nacional del Medio Ambiente y Recursos Naturales, Ecología y Restauración, Fondo Nacional de Fomento al Turismo (FONATUR), Secretaria de Educación Publica (SEP); Instituto Tecnológico del Mar (ITMAR), Secretaria de Marina (SEMAR), Dirección general de Oceanografía (DGO), Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales, Secretaria de Salud (SSA), Secretaria de Turismo (SECTUR), Universidad Autónoma de Baja California (UABC), Universidad de Colima (UCOL). 2006 p,40.

GARCIA, A. y CROQUER, A. Algunas características funcionales de las comunidades bacterianas del mucus asociado a tejidos sanos y con síndrome de banda amarilla en *Montastraea annularis*. *INCI*, vol.29, No.1 enero 2004, p.39-45.

GELDERICH, E. Water Borne Pathogen. En: Water Polution Microbiology. London UK: Jhon Weley. 1972, p. 207-242.

GISADO, C. ARROYO, P. BERSALUCE, J. Desarrollo Metodológico para el Análisis de Agua de Lastre y Generación de la Norma de Control. Universidad Católica del Norte Diplomado en Gestión Ambiental y Manejo Ambiental de Recursos. Antofagasta, Chile. 1998, p.25.

GLASNER & KEE. Pathogen Ocurrente and Análisis in Relation to Water Quality Attainment in San Francisco Bay Area Watersheds, En: A Report prepared by San Fransisco Estuary Institute to assist regulatory agencies with the development of Bay Area TMDLs. San Francisco: Estados Unidos, 2002, p.10.

GODFREE, A., KAY & WYER, M. Faecal streptococci as indicator of fecal contamination in water. EN: Journal of Applied Microbiology (Symposium Supplement). No.83, 1997, p. 110-119.

GÓMEZ, M. Condiciones bacteriológicas de la mojarra rayada *Eugerres plumieri* (Cuvier, 1830) en la Cienaga Grande de Santa Marta. Santa Fe de Bogotá 1999 130p. Trabajo de grado. (Microbiología Industrial). Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias Básicas.

GÓMEZ, M., VIVAS, L., RUIZ, R., REYES, V. Y HURTADO, C. Bacterias marinas nativas degradadoras de compuestos orgánicos persistentes en Colombia. Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras - INVEMAR - Santa Marta No.19 2006, p.32.

GONZALES, G. ROJAS, T., CHARÓN, N. Bacterias enteropatogenas e Indicadores de Contaminación en aguas recreativas para campismo En: Serie Ambiental N°4 *Salmonella* en el ambiente Instituto Nacional de Higiene Epidemiología y Microbiología, Cuba. 1996, p. 127-135.

GOREAU, T., CERVINO, J., GOREAU, M., HAYES, R., HAYES, M., RICHARDSON, LL., SMITH, G., DEMEYER, K., NAGELKERKEN, I., GARZÓN-FERREIRA, J., Gil-AGULEDO, D., PETERS, E., GARRISON, G., WILLIAMS, G., BUNKLEY, J., QUIROLO, C., PATTERSON, K. Rapid spread of disease in Caribbean coral reefs. En: Revista Biología. Tropical 46 (1998), p.157-172. Citado por: GARCIA, A. y CROQUER, A. Algunas características funcionales de las comunidades bacterianas del mucus asociado a tejidos sanos y con síndrome de banda amarilla en *Montastraea annularis*. *INCI*, vol.29, No.1 enero 2004; p.39-45.

GUNDERSEN, K., MOUNTAIN, C., TAYLOR, D., OHYE, R. SHEN, J. 1972. Limnol.Oceanogr., 17,524-531. Citado por: JOINT I.R., MORRIS R.J.. The role of

Bacteria in the turnover of organic matter in the sea En: Revista anual de Oceanografía y Biología Marina Reino Unido Vol 20, 1982, p. 65-118.

HARVELL, CD., KIM K., BURKHOLDER, JM., COLWELL, RR., EPSTEIN, PR., GRIMES, DJ., HOFMANN, EE., LIPP, EK., OSTERHAUS, ME., OVERSTREET, RM., PORTER, JM., SMITH, GW., VASTA, GR. (1999) Emerging marine diseases— Climate links and anthropo-genic factors. Science 285: 1505-1510. Citado por: GARCIA, A. y CROQUER, A. Algunas características funcionales de las comunidades bacterianas del mucus asociado a tejidos sanos y con síndrome de banda amarilla en *Montastraea annularis*. *INCI*, vol.29, No.1 enero 2004; p.39-45.

HARVELL, CD., MITCHELL, CE., WARD, JR., ALTIZER, S., DOBSON, AP, OSTFELD, RS., SAMUEL, MD. (2002) Climate warming and disease risk for terrestrial and marine biota. Science 296: 2158-2162. Citado por: GARCIA, Adriana y CROQUER, Aldo. Algunas características funcionales de las comunidades bacterianas del mucus asociado a tejidos sanos y con síndrome de banda amarilla en *Montastraea annularis*. *INCI*, vol.29, No.1 enero 2004; p.39-45.

HERVIO.H, COLWELL R , DERRIEN A, ROBERT-PILLOT A, FOURNIER J M, POMMEPUY M. Occurrence of pathogenic vibrios in the coastal areas of France. J Appl Microbiol 2002; 92: 1123-35.

HENRIKSEN A. Z, A. SÁNDWICH, K. BERGH R., REIERSEN and NATÁS O. Alvolig gastroenteritt etter innen lands smitte med *Vibrio cholerae* non-01 tidsskr. Nor Laegeforen 1993, p.113.

HOBBIE, J., HOLM-HANSEN, O., PACKARD, T., POMEROY, L. SHELDON, R., THOMAS,J., WIEBE,W. 1972. Limnol. Oceanogr.,17, 544-555. Citado por: JOINT I.R., MORRIS R.J.. The role of Bacteria in the turnover of organic matter in the sea En: Revista anual de Oceanografía y Biología Marina Reino Unido Vol 20, 1982, p. 65-118.

HOLT, J., KRIEG, N., SNEATH, H., STALEY, J., WILLIAMS, S. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 9th ed. Baltimore, Maryland, USA: Williams & Wilkins, 1994. p. 784.

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES MARINAS Y COSTERAS "JOSE BENITO VIVES DE ANDREIS. INVEMAR. Programa Nacional de Investigación en Biodiversidad Marina y Costera PNIBM. Editado por Juan Manuel Díaz Merlano y Diana Isabel Gómez López. Santa Marta: INVEMAR, FONADE, MMA, 2000, p.80.

JARA, A. Microbiología del agua. En: El agua en Iberoamérica. Aportes para la integración entre los organismos de gestión y los centros de investigación. Cyted XVII. Aprovechamiento y gestión de recursos hídricos. Programa Iberoamericano de ciencia y tecnología para el desarrollo. Enfoques integrados de la problemática del agua II jornadas iberoamericanas centro de formación de la cooperación española de Cartagena de indias, Colombia. 2003, p.39.

JELSOFT Fotos de los Puertos de Colombia. Puertos del Caribe Colombiano. [On Line]. [Barranquilla, Atlantico, 1999] [fecha de consulta 5-11-2005] Disponible en: URL>:<http://skyscrapercity.com/showthread.php?t=269659>.

JOACHIMSTHAL, E., VOLODYMYR I., JOO-HWA, Tay., STEPHEN,T. and TAY. Flow Cytometry and Conventional Enumeration Of Microorganisms In Ships' Ballast Water And Marine Sample. En: Marine Pollution Bulletin (Singapore) N°46, 2003, p.308-313.

_____. Singapore Seeks Rapid Monitoring Method. EN: Ballast Water News. Global Ballast Water. (London, UK) Issue 9, April-June, 2002, p.9-10.

JOINT I.R., MORRIS R.J.. The role of Bacteria in the turnover of organic matter in the sea En: Revista anual de Oceanografía y Biología Marina (Reino Unido) Vol 20, 1982, p. 65-118.

KARL, D. & HOLM-HANSEN, O.1978. Mar Biol.48, 185-197. Citado por: JOINT I.R., MORRIS R.J. The role of Bacteria in the turnover of organic matter in the sea En: Revista anual de Oceanografía y Biología Marina (Reino Unido) Vol 20, 1982, p. 65-118.

KNIGHT, I. WELLS C., WIGGINS, B., RUSSELL, H, REYNOLDS, K., HUQ, A. Detection and Enumeration of Fecal Indicators and Pathogens in the Ballast Water of Transoceanic Cargo Vessels Entering the Great Lakes [On Line]. Abstract Presented at the General Meeting of the American Society for Microbiology, [Chicago, 1999] Abstract Q-71, p. 546 [Fecha de consulta 24- 08- 2005]. Disponible en: URL>: <http://www.nemw.org/pathogens>.

KVENBERG E. J. Nonindigenous Bacterial pathogens Microbiology of Marine Food Products. New York E.U.A: Avi Book. 1991, p. 278-281.

LISTON, Jhon. Association of *Vibrionaceae*, *Natural Toxins*, and *Parasites with fecal indicators* En: Microbiology of marine of food products. (New York) Van Nostrand Reinhold. 1991.

MADIGAN T.M; MARTINKO M.J., PAKER J. BROK Biología de los Microorganismos. 10 ed. Madrid, España: Pearson Hill. 2004, p. 1011.

MARGALEF, R. Ecología. Barcelona, España: Omega, 1995, p.951.

MATA L. 1994 Cholera EL TOR in Latin America, 1991-1993 Annals of of the New York Academy of Science 740pp :50-68p. Citado por: CASALE, G. Ballast Water. A Public health Issue? 8 ed. London: Global Ballast Water, 2002, p.4-5.

Ministerio de Recursos Naturales de la Republica Argentina. Subsecretaria de Recursos Hídricos de la Nación. [En línea] Niveles Guía Nacionales de Calidad Agua Ambiente correspondientes a *Escherichia coli* y *Enterococos*. [Fecha de consulta 30-06-06.] Disponible en: <http://hidricos.obraspublicas.gov.ar/documentos/calidad/escherichia.pdf>.

MCCARTHY, A.S., F.M. KHAMBATY. International Dissemination of Epidemic *Vibrio Cholerae* by Cargo Ship Ballast Water and Other Non Potable Waters. *Applied and Environmental Microbiology*, 60, no.7 pp 2597-2602, 1994. Citado por: FALKNER, Maurya Report on the California Ballast Water Management Program 2003. Impacts of Nonindigenous Aquatic Species. California, 2003, p.4.

MIMURA, H., KATAKURA, R., ISHIDA, H. Changes of microbial populations in a ship's ballast water and sediments on a voyage from Japan to Qatar EN: Marine Polution Bulletin (Japón) N°50, 2005, p.751-757.

MINTRANSPORTE Sociedades Portuarias [On Line] [Bogotá: Colombia] Gobierno en Línea Copyright 2000 [Ultima edición 21-08-2003] [Fecha de consulta 4 -04-2006]. Disponible en <http://www.supertransporte.gov.co/puertosantamarta/htm>.

MONROE, P. and COLWELL, R. Fate of *Vibrio cholerae* 01 in seawater microcosms. *Water Research*. 30:47-50. 1996 Citado por: RAAYMAKERS, Steve. The ballast Water Problem: Global Ecological, Economic and Human Health Impacts. Paper presented at the RECSO/IMO Join Seminar on Tanker Ballast Water Management & Technologies Globallast. [On Line]. [Dubai, UAE, 16-18 dic. 2002] [Fecha de consulta: 15-8-2005], disponible en: URL>:<http://globallast.imo.org> and <http://globallast.imo.org/index.asp?page=problem.htm&menu=true>.

MOSSEL, D. Marker index and indicator organisms in food and enumeration. *Antonie van Leeuwenhoek. J Microbiol Serol* Vol 48 No.11, 1982 p. 609.

MONTOYA, M. ¿Sabes que es el agua de Lastre?, Folleto Informativo. Universidad del Magdalena. INTROPIC Instituto de Investigaciones Tropicales 2006. Santa Marta, Colombia.

MULLER, K. Interrelaciones entre salinidad y temperatura en la bahía de Santa Marta. En: An. Inst. Inv. Mar. Punta Betín: 11, 1979, p. 219-226.

NIIMI, A, REID, D. Low salinity residual ballast discharge and exotic species introductions to the North American Great Lakes. En: Marine Pollution Bulletin N°46- Canadá, 2003, p.1334-1340.

ORGANIZACIÓN MARITIMA INTERNACIONAL - OMI. Directrices para el control y la gestión del agua de lastre de los buques a fin de reducir al mínimo la transferencia de organismos acuáticos perjudiciales y agentes patógena. Resolución A.868 (20) aprobada el 27 de noviembre de 1997. 1998, p.17.

_____ Convenio Internacional para el control y la gestión de aguas y sedimentos de Lastre "Ballast tank convention" [On Line] Organización Marítima Internacional [Londres Inglaterra] 2004-02-13 Disponible en Internet >URL:<http://www.imo.org>. [Fecha de consulta 17-03-2006].

PACKART, T, HEALY, M. and RICHARDS, F. 1971. Limnol. Oceanog.16.60-70. Citado por: JOINT I.R., MORRIS R.J.. The role of Bacteria in the turnover of organic matter in the sea En: Revista anual de Oceanografía y Biología Marina (Reino Unido) Vol 20, 1982, p. 65-118.

PÁEZ, C. VANEGAS, T., GAVILÁN, M., MORRIS, L., TOUS, G. Dinámica planctónica, microbiológica y fisicoquímica en cuatro muelles de la Bahía de Cartagena y buques de tráfico internacional EN: Boletín Científico CIOH No. 23, (Cartagena de Indias, Colombia), 2005,p. 56-76.

PELCZAR, M. ROGER, R. y CHAN. Microbiología. 4 ed. Santa Fe de Bogota, Colombia: McGraw Hill, 1997, p.826.

PERSCOTT, HARLEY, KLEIM. Microbiología. 5 ed Barcelona, España: McGraw Hill Interamericana, 2004, p.1240.

PIELOU, E.C. The interpretation of Ecological Data, Wiley, New York BioDiversity 1997 NHM & SAMS (1984)



PITA, M. Tendencia actual del estreptococo como indicador de contaminación fecal. En: Revista Cubana Higiene y Epidemiología. 40, 1, 2002 p.38-43.

POTERA C. 1999 Forging a link between biofilm and disease science 283:183 citado por: CASALE, G. Ballast water a public health issue? 8 ed. London: Global Ballast Water, 2002; p4-5.

RAMAIAH, N. KOLHE, V. and SADHASIVAN, A. Abundante of pollution indicador and pathogenic bacteria in Mumbai waters. EN: Current Science. Vol 87 No 4. (Mumbai, India), 2004, p. 435-439.

RAMÍREZ, G. Características fisicoquímicas de la bahía de Santa Marta (agosto 1980 – julio 1981). En: an. Inst. Inv. Mar. Punta Betín: 13, 1983, p. 111-121.

RAMOS, L. M.. Caracterización de la comunidad fitoplanctónica de la bahía de Santa Marta (Caribe Colombiano). Santa Marta 2005 86p.+ anexos Tesis de grado. (Bióloga con énfasis en recursos hídricos) Universidad del Magdalena. Facultad de Ciencias Básicas.

RAAYMAKERS, Steve and DANDU, Pughiuc. The Problem. Global Ballast Water. EN: Ballast Water News. (London, UK). Issue 1, April-June, 2000, 8p.

_____ The ballast Water Problem: Global Ecological, Economic and Human Health Impacts. Paper presented at the RECSO/IMO Join Seminar on Tanker Ballast Water Management & Technologies Globallast.. [On Line]. [Dubai, UAE, 16-18 dic. 2002] [Fecha de consulta: 15 -08- 2005], disponible en: URL: <http://globallast.imo.org> and <http://globallast.imo.org/index.asp?page=problem.htm&menu=true>.

RAAYMAKERS, S. y GOULD, L. Ten of the Most Unwanted Folleto Informativo. OMI. GBW, GEF, UNDP, . London UK 2001.

REYNOLDS, WIGGINS B, and RUSSELL H. Detección y enumeración de indicadores fecales y patógenos en el agua del lastre de los barcos Transoceánicos que entran en los Grandes Lagos. [On Line]. Abstract Presentado en la reunión general de la sociedad americana para la microbiología, [Chicago, 1999] Q-71, p. 546. [Fecha de consulta 24 -08- 2005]. Disponible en URL>: <http://www.nemw.org/pathogens.htm>.

RONDON, S., VANEGAS, T. & TIGREROS, P. Sampling ballast water for pathogens: The Colombian approach. En: 1st International Workshop on Guidelines and Standards for Ballast Water Sampling. Río de Janeiro, Brasil. 2003.

RUIZ, G. 2000. Global spread of microorganisms by chips. *Nature*. 2000; 408 (Nov);49 Citado por: CASALE, Gloria. Ballast Water. A Public health Issue? 8 ed. London: Global Ballast Water, 2002; p.4-5.

SACK, D. A; SACK, R; G BALAKRISH, N.; SIDDIQUE, A. Cholera *The Lancet*; ProQuest Biology Journals Jan 17, 363, 9404, 2004, p. 223.

SALAS, H. Historia y Aplicación de Normas Microbiológicas de Calidad de Agua en el Medio Marino. Centro Panamericano de Ingeniería Sanitaria y Ciencias del Medio Ambiente (CEPIS) División de Salud y Ambiente. Organización Panamericana de la Salud, Oficina Sanitaria Panamericana, Oficina Regional de la Organización Mundial de la Salud. No.19, 2000, p.14.

SANCHEZ, A., CADENA, J., GRAJALES, A., PORTO I. ¿Por qué se están muriendo los corales? Blanqueamiento coralino: Causas consecuencia e hipótesis. [On Line], [2005] [Fecha de consulta 30 -06- 2006]. Disponible en:URL> <http://ciencias.uniandes.edu.co/pdf/corales05.pdf>.

SIEBURTH, J. McN. 1971 Deep-sea Res.,18,1111-1121 Citado por: JOINT I.R., MORRIS R.J.. The role of Bacteria in the turnover of organic matter in the sea En: Revista anual de Oceanografía y Biología Marina Reino Unido Vol 20, 1982, p. 65-118.

_____, J. McN. 1977. Helgoländer wiss. Meeresunters.,30,697-704. Citado por: JOINT I.R., MORRIS R.J.. The role of Bacteria in the turnover of organic matter in the sea En: Revista anual de Oceanografía y Biología Marina Reino Unido Vol 20, 1982, p. 65-118.

SOZA P. *Vibrio parahaemolyticus* Bacteria "made in Asia".Revista EN: Ciencia y trabajo (Santiago de Chile) ed.15. 2005- p. A19-A22.

SINTON LW, DONNISON AM (1994) Characterization of faecal streptococci from some New Zealand effluents and receiving waters. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*, 28: 145–158. Citado por: Guidelines for safe Recreational Water Environments. World Health Organization Geneva. Volume 1 Coastal And Fresh Waters. 2003 chapter 4 Faecal Pollution and Water Quality p, 51-101.

STRICKLAND, J., and PARSON, T. A practical handbook of seawater analysis. Fish. Res. Board of Canada. Segunda Edicion. Ottawa. 1972. 148p.

SUPERTRANSPORTE. Superintendencia de Puertos y Transporte. Trafico Portuario, Sociedades Portuarias / Muelles Homologados 2004 [On Line] [Bogotá: Colombia] Gobierno en Línea Copyright 2002 [Ultima edición 21-08-2003] [Fecha de consulta 4 -04- 2006]. Disponible en <http://www.supertransporte.gov.co/anuario/consolidado%202004%20validacion%20Abril%205.pdf>.

TAKAHASHI, M. and ICHIMURA, S. 1971. Mar Biol. 11, 206-213. Citado por: JOINT I.R., MORRIS R.J.. The role of Bacteria in the turnover of organic matter in the sea En: Revista anual de Oceanografía y Biología Marina Reino Unido Vol 20, 1982, p. 65-118.

TORANZO AE, DOPAZO CP, ROMALDE JL, SANTOS Y, BARJA JL. Estado actual de la patología bacteriana y vírica en la piscicultura española. EN: Revista AquaTIC, [On Line], Nº 1, [noviembre 1997]. [Fecha de consulta 31 -07 2006]. Disponible en URL>: <http://www.revistaaquatic.com/aquatic/art.asp?t=h&c=18>

VOLTERRA L, BONADONNA L, AULICINO FA (1986) Fecal streptococci recoveries in different marine areas. Water, Air and Soil Pollution, 29: 403–413. Citado por: Guidelines for safe Recreational Water Environments. World Health Organization Geneva. Volume 1 Coastal And Fresh Waters. 2003 chapter 4 Faecal Pollution and Water Quality p, 51-101.

PIELOU, E. The interpretation of Ecological Data, Wiley, New York 1984 [On line] Software Biodiversity 2.0 Disponible en: www.download.com/search/biodiversity.exe.html fecha de consulta 20-11-2006 copyright 2005.

WEIL, E. The corals and coral reefs of Venezuela 2001. En Cortes J (Ed.) *Latin American Coral Reefs*. Elsevier. Amsterdam, Holanda. pp. 305-330. Citado por: GARCIA, Adriana y CROQUER, Aldo. Algunas características funcionales de las comunidades bacterianas del mucus asociado a tejidos sanos y con síndrome de banda amarilla en *Montastraea annularis*. *INCI*, vol.29, No.1, enero, 2004; p.39-45.

WEIL, E., URREIZTIETA, I. and GARZÓN-FERREIRA, J. 2002 Geographic variability in the incidence of coral and octocoral diseases in the wider Caribbean. *Proc. 9th Internat. Coral Reef Symp.* (Bali, Indonesia). Vol. 2. pp. 1231-1238. Citado por: GARCIA, Adriana y CROQUER, Aldo. Algunas características funcionales de las comunidades bacterianas del mucus asociado a tejidos sanos y con síndrome de banda amarilla en *Montastraea annularis*. *INCI*, vol.29, No.1 enero 2004; p.39-45.

WILLIAMS, P., CARLUCCI, A., OLSON, R., 1980. Oceanol. Acta,3, 256-258. Citado por: JOINT I.R., MORRIS R.J.. The role of Bacteria in the turnover of organic matter in the sea En: Revista anual de Oceanografía y Biología Marina Reino Unido Vol 20, 1982, p. 65-118.

WITTEMBERG, R y COCK (eds) Invasive alien species. A tollkit of best prevention and management practices. CAB Internacional. Wallingford, Oxon. UK., 2001 XII-228 Citado por: RONDON, S., VANEGAS, T. & TIGREROS, P. Sampling ballast water for pathogens: The Colombian approach. En: 1st International Workshop on Guidelines and Standards for Ballast Water Sampling. Río de Janeiro, Brasil. 2003.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO) Guidelines for safe recreational water environments. Volume 1, Coastal and fresh 20 Avenue waters. Appia, 1211 Geneva 27, Switzerland, 2003. p 253.

ZAR, J. Biostatistical Analysis. Contingency table. Fourth edition. New Jersey, 1999, p.486-515.

ZO Y, GRIMM C, M MATE, G MATE, HUQ A Y COLWELL. 1999 Detección y enumeración de bacterias patógenas en el agua del lastre de los barcos Transoceánicos que incorporan esta agua a los Grandes Lagos y la resistencia a los antibióticos comunes. [On Line]. Abstract presentado en la reunión general de la sociedad americana para la microbiología, [Chicago, 1999] Q-317, p. 594 [Fecha de consulta 24- 08- 2005]. Disponible en: URL>: <http://www.nemw.org/pathogens>.



Anexo 1. Formato OMI 868 (20) (1997) BALLAST WATER REPORTING FORM (TO BE PROVIDED TO PORT STATE AUTHORITY UPON REQUEST)

1. VESSEL INFORMATION

Vessel Name:	Type:	IMO Number:	Specify Units: m³, MT, LT, ST
Owner:	GT:	Call Sign:	
Flag:	Arrival Date:	Agent:	
Last Port and Country:	Arrival Port:		
Next Port and Country:			

2. BALLAST WATER

3. BALLAST WATER TANKS BALLAST WATER MANAGEMENT PLAN ON BOARD? YES _____ NO _____ HAS THIS BEEN IMPLEMENTED?

TOTAL NO. OF TANKS ON BOARD _____ NO. OF TANKS IN BALLAST _____ IF NONE IN BALLAST GO TO NO. 5 YES _____ NO _____

NO. OF TANKS EXCHANGED _____ NO. OF TANKS NOT EXCHANGED _____

4. BALLAST WATER HISTORY: RECORD ALL TANKS THAT WILL BE DEBALLASTED IN PORT STATE OF ARRIVAL; IF NONE GO TO NO. 5

	BW SOURCE				BW EXCHANGE : circle one: Empty/Refill or Flow Through					BW DISCHARGE			
	DATE ddmmyy	PORT or LAT. LONG	VOLUME (units)	TEMP (units)	DATE ddmmyy	ENDPOINT LAT. LONG.	VOLUME (units)	% Exch.	SEA Hgt. (m)	DATE ddmmyy	PORT or LAT. LONG.	VOLUME (units)	SALINITY (units)

Ballast Water Tank Codes: Forepeak=FP, Aftpeak=AP, Double Bottom=DB, Wing=WT, Topside=TS, Cargo Hold=CH, O=Other

IF EXCHANGES WERE NOT CONDUCTED, STATE OTHER CONTROL ACTION(S) TAKEN: IF NONE, STATE REASON WHY NOT: _____ **5. IMO BALLAST WATER**



Anexo 2. Planilla de recolección de datos durante la fase de campo

SESIÓN No.	FECHA (AÑO 2006)	HORA	NOMBRE DEL BUQUE (CÓDIGO)	TIPO DE BUQUE	CÓDIGO TANQUE	PROF. TANQUE (m)	ENTREGÓ FORMATO Globallast?	TEMP. (°C)	OXÍGENO (mg/l)	SALINIDAD (UPS)	pH	No. LANCES DE BOTELLA	OBSERVACIONES

Anexo 3. Planilla con información de la caracterización macro y microscópica de los morfotipos en laboratorio.

CODIGO DE LA EMBARCACION	AUSENCIA/PRESENCIA	NÚMERO DE MORFOTIPOS	MORFOLOGÍA DE GRAM	DESCRIPCIÓN MACROSCOPICA

Anexo 4. Prueba confirmativa para especie mediante la Analisis bioquímico con paneles BBL Crystal

BD BBLCRYSTAL™
Enteric/Nonfermenter ID System / E/NF 同定検査キット

Reference # / 参照番号 SALMONELLA
N° de référence / Referenz / N° di riferimento / N° de referencia / Referencia / Referens

Source/Site / 検体採取部位 AGUA DE LASTRE
Origine/Site / Quelle/Labor / Provenienza/Sede / Fuente/Lugar / Fontelocal / Källa/Plats / Kilde/Sted

12 B15 LOT 1

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
4	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
	ARA	MNS	SUC	MEL	RHA	SOR	MNT	ADO	GAL	INO
2	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+
	PHO	BGL	NPG	PRO	BPH	BYX	AAR	PHC	GLR	NAG
1	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+
	GGL	ESC	PHE	URE	GLY	CIT	MLO	TTC	ARG	LYS

/ N° 番号 5 7 6 6 6 7 3 1 1 3

MOT NIT ORN GEL DNA XYL

MR VP H₂S 42°C CEL PK-S

Organism ID / 菌種同定番号 / ID de l'organisme / ID des Organismus / ID dell'organismo / ID del organismo / ID do Organismus / Organism-ID / Organisme-ID

Brucella abortus

Supplemental Test Information / 追加検査の情報
Information d'analyse supplémentaire / Zusätzliche Testinformationen
Informazioni di test supplementari / Información del análisis suplementario
Informações Suplementares para o Teste / Ytterligere testinformation
Supplémentaire testinformation
Becton, Dickinson and Company
Sparks, Maryland 21152 USA
38800 Le Pont de Claix, France
日本ベクトン・ディキンソン株式会社

Additional Information / その他の情報
Information supplémentaire / Zusätzliche Informationen
Informazioni supplementari / Información adicional
Informações Suplementares / Ytterligere opplysninger
Yderligere information

BD BBLCRYSTAL™
Gram-Positive ID System / GP 同定検査キット

Reference # / 参照番号
N° de référence / Referenz / N° di riferimento / N° de referencia / Referencia / Referens

Source/Site / 検体採取部位
Origine/Site / Quelle/Labor / Provenienza/Sede / Fuente/Lugar / Fontelocal / Källa/Plats / Kilde/Sted

12 B15 LOT 1

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	FCT	PPH	FTR	PHO	TRE	SUC	ARA	BGL	PHO	URE
2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	FGG	FGS	FAR	FGN	LAC	MNT	GLR	PCE	PAM	ESC
1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	FVA	FPY	PGA	FIS	MAB	MTT	FRU	PLN	PGO	ARG

/ N° 番号 2 4 7 0 7 5 7 6 3 3

Organism ID / 菌種同定番号 / ID de l'organisme / ID des Organismus / ID dell'organismo / ID del organismo / ID do Organismus / Organism-ID / Organisme-ID

Enterococcus faecium
Streptococcus

Supplemental Test Information / 追加検査の情報
Information d'analyse supplémentaire / Zusätzliche Testinformationen
Informazioni di test supplementari / Información del análisis suplementario
Informações Suplementares para o Teste / Ytterligere testinformation
Supplémentaire testinformation
Becton, Dickinson and Company
Sparks, Maryland 21152 USA
38800 Le Pont de Claix, France
日本ベクトン・ディキンソン株式会社

Additional Information / その他の情報
Information supplémentaire / Zusätzliche Informationen
Informazioni supplementari / Información adicional
Informações Suplementares / Ytterligere opplysninger
Yderligere information

BD BBLCRYSTAL™
Enteric/Nonfermenter ID System / E/NF 同定検査キット

Reference # / 参照番号 Vibrio
N° de référence / Referenz / N° di riferimento / N° de referencia / Referencia / Referens

Source/Site / 検体採取部位 Agua de lastre
Origine/Site / Quelle/Labor / Provenienza/Sede / Fuente/Lugar / Fontelocal / Källa/Plats / Kilde/Sted

12 B15 LOT 1

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	ARA	MNS	SUC	MEL	RHA	SOR	MNT	ADO	GAL	INO
2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	PHO	BGL	NPG	PRO	BPH	BYX	AAR	PHC	GLR	NAG
1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	GGL	ESC	PHE	URE	GLY	CIT	MLO	TTC	ARG	LYS

/ N° 番号 4 7 6 4 6 4 4 0 0 2 0

MOT NIT ORN GEL DNA XYL

MR VP H₂S 42°C CEL PK-S

Organism ID / 菌種同定番号 / ID de l'organisme / ID des Organismus / ID dell'organismo / ID del organismo / ID do Organismus / Organism-ID / Organisme-ID

Vibrio

Supplemental Test Information / 追加検査の情報
Information d'analyse supplémentaire / Zusätzliche Testinformationen
Informazioni di test supplementari / Información del análisis suplementario
Informações Suplementares para o Teste / Ytterligere testinformation
Supplémentaire testinformation
Becton, Dickinson and Company
Sparks, Maryland 21152 USA
38800 Le Pont de Claix, France
日本ベクトン・ディキンソン株式会社

Additional Information / その他の情報
Information supplémentaire / Zusätzliche Informationen
Informazioni supplementari / Información adicional
Informações Suplementares / Ytterligere opplysninger
Yderligere information

BD BBLCRYSTAL™
Enteric/Nonfermenter ID System / E/NF 同定検査キット

Reference # / 参照番号 Shigella
N° de référence / Referenz / N° di riferimento / N° de referencia / Referencia / Referens

Source/Site / 検体採取部位 Agua de lastre
Origine/Site / Quelle/Labor / Provenienza/Sede / Fuente/Lugar / Fontelocal / Källa/Plats / Kilde/Sted

12 B15 LOT 1

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	ARA	MNS	SUC	MEL	RHA	SOR	MNT	ADO	GAL	INO
2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	PHO	BGL	NPG	PRO	BPH	BYX	AAR	PHC	GLR	NAG
1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	GGL	ESC	PHE	URE	GLY	CIT	MLO	TTC	ARG	LYS

/ N° 番号 3 4 4 5 2 0 4 0 4 0

MOT NIT ORN GEL DNA XYL

MR VP H₂S 42°C CEL PK-S

Organism ID / 菌種同定番号 / ID de l'organisme / ID des Organismus / ID dell'organismo / ID del organismo / ID do Organismus / Organism-ID / Organisme-ID

Shigella
99% confirmed

Supplemental Test Information / 追加検査の情報
Information d'analyse supplémentaire / Zusätzliche Testinformationen
Informazioni di test supplementari / Información del análisis suplementario
Informações Suplementares para o Teste / Ytterligere testinformation
Supplémentaire testinformation
Becton, Dickinson and Company
Sparks, Maryland 21152 USA
38800 Le Pont de Claix, France
日本ベクトン・ディキンソン株式会社

Additional Information / その他の情報
Information supplémentaire / Zusätzliche Informationen
Informazioni supplementari / Información adicional
Informações Suplementares / Ytterligere opplysninger
Yderligere information

ANEXO 5(A) Prueba confirmativa de especie mediante Analisis Bioquimico con paneles API 20

C:\WINDOWS\system32\cmd.exe

Salir	Identificación	Parámetros	Configuración
Identificación para la referencia N°ICBM17			
Galeria: API 20 E U4.0			
Perfil : 3 3 0 4 7 7 3			
MUY BUENA IDENTIFICACION EN EL GENERO			
Taxones significativos — % id. — I — Tests en contra			
Enterobacter cloacae	71.0	0.73	2
Ent.sakazakii	28.2	0.66	2
<div> <div>Resultado completo</div> <div>Perfil descifrado'</div> <div>Tests complementarios</div> <div>Elección de un taxón</div> </div>			
POSSIBILIDAD DE Enterobacter cloacae			
A-[4/ 7 Referencias]-[*] [02/08/2007-07:46:45]			
F1 Ayuda	F3 Perfil	F5 Impresión	F7 Selección
F2 Referencia	F4 Identificación	F6 Supresión	F8 Listado
		F9 Menú/Lista	F10 Validación

C:\WINDOWS\system32\cmd.exe

Salir	Identificación	Parámetros	Configuración
Identificación para la referencia 50CH			
Galeria: API 20 E U4.0			
Perfil : 5 1 0 7 1 2 0			
PERFIL DUDOSO			
Taxones significativos — % id. — I — Tests en contra			
Vibrio cholerae	93.1	0.31	3
<div> <div>Resultado completo</div> <div>Perfil descifrado'</div> <div>■Tests complementarios</div> <div>Elección de un taxón</div> </div>			
IMPORTANTE ! "IDENTIFICACION PRESUNTIVA"			
A-[1/ 7 Referencias]-[*] [02/08/2007-07:38:46]			
F1 Ayuda	F3 Perfil	F5 Impresión	F7 Selección
F2 Referencia	F4 Identificación	F6 Supresión	F8 Listado
		F9 Menú/Lista	F10 Validación



ANEXO 5 (B) Prueba confirmativa de especie mediante Analisis Bioquimico con paneles API 20

C:\WINDOWS\system32\cmd.exe

Salir	Identificación	Parámetros	Configuración
Identificación para la referencia N°ICBM17			
Galeria: API 20 E U4.0			
Perfil : 0 0 0 7 1 2 6			
BUENA IDENTIFICACION			
Taxones significativos — % id. — I — Tests en contra			
Aer.hydrophila gr. 1 97.9 0.31 5			
<div> Resultado completo Perfil descifrado' Tests complementarios Elección de un taxón </div>			
POSSIBILIDAD DE Vibrio fluvialis			
A-[4/ 7 Referencias]-[*] [02/08/2007-07:53:57]			
F1 Ayuda	F3 Perfil	F5 Impresión	F7 Selección
F2 Referencia	F4 Identificación	F6 Supresión	F8 Listado
			F9 Menú/Lista
			F10 Validación

C:\WINDOWS\system32\cmd.exe

Salir	Identificación	Parámetros	Configuración
Identificación para la referencia N°ICBM17			
Galeria: API 20 E U4.0			
Perfil : 3 0 4 6 1 2 6			
DEBIL DISCRIMINACION			
Taxones significativos — % id. — I — Tests en contra			
Vibrio fluvialis 71.7 1.00 0			
Aer.hydrophila gr. 1 28.2 0.92 1			
<div> Resultado completo Perfil descifrado' Tests complementarios Elección de un taxón </div>			
POSSIBILIDAD DE Vibrio fluvialis			
A-[4/ 7 Referencias]-[*] [02/08/2007-07:56:24]			
F1 Ayuda	F3 Perfil	F5 Impresión	F7 Selección
F2 Referencia	F4 Identificación	F6 Supresión	F8 Listado
			F9 Menú/Lista
			F10 Validación

